



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STABILITA HUMINOVÝCH KOMPLEXŮ

STABILITY OF HUMIC COMPLEXES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Silvie Vlašicová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1413/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Silvie Vlašicová**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Stabilita huminových komplexů

Zadání bakalářské práce:

1. Seznámit se s problematikou vzniku a stability huminových komplexů důrazem na komplexy s barvivy, hormony a léčivy.
2. Seznámit se s možnostmi studia stability huminových komplexů.
3. Na základě poznatků získaných v předchozích bodech navrhnout metody vhodné ke studiu a provést experimenty.
4. Zhodnotit výsledky experimentů a navrhnout další postup.

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Silvie Vlašicová
student(ka)

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na huminové kyseliny, jako aktivní složku půdní organické hmoty, a jejich interakce s vybraným léčivem Ibuprofenem. Náplní práce byla nejprve optimalizace metod stanovení léčiva v roztocích obsahujících huminové kyseliny. Následně byly provedeny adsorpční experimenty, které poskytly informace o účinnosti adsorpce v závislosti na koncentraci Ibuprofenu. Desorpční experimenty pak byly využity ke stanovení stability komplexů huminových látek s Ibuprofenem, resp. podílu mobilní a vázané frakce Ibuprofenu v připravených komplexech.

ABSTRACT

This bachelor thesis is focused on humic acids as an active ingredient of organic soil substance and their interaction with the selected drug, Ibuprofen. The aim of this work was to optimize the methods of drug determination in solutions containing humic acids. Subsequently, adsorption experiments were performed to provide information about the adsorption efficiency depending on the concentration of Ibuprofen. Desorption experiments were then used to determine the stability of humic substance complexes with Ibuprofen, or, more precisely, the proportion of the mobile and bound Ibuprofen fraction in the prepared complexes.

KLÍČOVÁ SLOVA

Huminové látky, huminové kyseliny, Ibuprofen, stabilita, adsorpce, desorpce.

KEY WORDS

Humic substances, humic acids, Ibuprofen, stability, adsorption, desorption.

VLAŠICOVÁ, S. *Stabilita huminových komplexů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019. 39 s. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

Poděkování:

Velmi ráda bych na tomto místě poděkovala prof. Ing. Martině Klučákové, Ph.D. za odborné vedení, drahocenné rady a čas, který mi věnovala. Také bych chtěla poděkovat Ing. Janu Rybárikovi a Ing. Petře Sukové za pomoc a rady při experimentální části mé práce.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině, přítelovi a přátelům za podporu, kterou mi poskytli po celou dobu studia a při psaní bakalářské práce.

OBSAH

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část.....	8
2.1	Huminové látky	8
2.1.1	Vznik huminových látek	9
2.1.2	Zdroje huminových látek	11
2.1.3	Struktura a vlastnosti huminových látek	12
2.1.4	Dělení huminových látek	12
2.1.5	Využití huminových látek	14
2.1.6	Huminové kyseliny	15
2.1.7	Interakce huminových kyselin s organickými sloučeninami	16
2.1.8	Léčiva	17
3	Současný stav řešené problematiky.....	19
4	Experimentální část.....	21
4.1	Použité chemikálie a spotřební materiál	21
4.2	Použité přístroje.....	21
4.3	Příprava vzorků a roztoků potřebných pro měření	21
4.3.1	Zásobní roztok a jeho zkoncentrované roztoky.....	21
4.4	Postup práce.....	22
5	Výsledky a diskuze.....	23
5.1	Experimentální měření č.1	23
5.1.1	Kapalinová chromatografie	23
5.1.2	UV-VIS spektrometrie	24
5.1.3	pH.....	25
5.1.4	Vodivost	26
5.2	Experimentální měření č.2.....	27
5.2.1	Kapalinová chromatografie	27
5.2.2	UV-VIS spektrometrie	29
5.2.3	pH.....	31
5.2.4	Vodivost	32
5.3	FT-IR spektrometrie	34
6	Závěr.....	35
7	Seznam literatury.....	36

8	Seznam použitých zkratek.....	39
---	-------------------------------	----

1 ÚVOD

Huminové látky jsou přírodní organické látky vzniklé rozkladem biologického materiálu. Běžně se vyskytují v půdě nebo povrchových vodách. Struktura huminových látek není stále ještě zcela objasněna a je jedním z hlavních směrů jejich studia. Huminové látky dělíme na huminy, huminové kyseliny a fulvinové kyseliny. Ze všech funkčních skupin přítomných v jejich struktuře je nejvíce obsaženo karboxylových a fenolických skupin. Tyto skupiny přispívají k celkové kyselosti huminových látek. Využívají se například v zemědělství, farmacii a v průmyslu.

Cílem této bakalářské práce je proměřit interakce huminových látek s léčivy, jelikož léčiva a hormony způsobují v přírodě problémy, když se dostanou do odpadních vod a odtud i do půdy. Léky jsou tak poté neúčinné, neboť jsou bakterie odolné. Snažíme se tedy zjistit, zdali má i u těchto látek příroda samočistící schopnost, tj. vázat léčiva do své struktury. Důležitá je pak stabilita vzniklých komplexů, která je mírou síly vazby těchto látek.

V rámci řešení práce byly studovány adsorpční a desorpční vlastnosti huminových kyselin s Ibuprofenem. Hlavním úkolem tedy bylo zjistit, s jakou účinností k adsorpci dochází, a jak pevně je léčivo v komplexech vázáno.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Huminové látky

Huminové látky jsou přírodní organické sloučeniny, které patří mezi nejrozšířenější organický materiál. Jedná se o sloučeniny aromatického charakteru. Tyto látky se běžně vyskytují v půdě a povrchových vodách, kde se nachází v rozpuštěné či nerozpuštěné podobě, dále se nachází ve vodních sedimentech, uhlí nebo rašelinách. Ve vodě se vyskytují buď jako jednotlivé molekuly nebo jsou spojeny slabými vazebnými interakcemi do supramolekulárních struktur. Huminové látky hrají klíčovou úlohu v přírodě, protože přispívají k růstu rostlin, jsou zodpovědné za strukturu a fyzikálně-chemické vlastnosti půdy a taktéž jsou spojeny s většinou povrchových jevů, které nastávají v půdě. Mezi nejdůležitější funkce huminových látek v přírodě patří akumulární, regulační, ochranná a zásobovací funkce [1].

Představy o možných vazebných interakcích HL lze odvodit především z dosud známých informací o struktuře HL (např. tvoření komplexů s kovy díky fenolickým a karboxylovým skupinám) a z některých dalších vlastností HL [2].

Iontová vazba vzniká působením elektrostatických sil mezi některými funkčními skupinami v HL a ionty vyskytující se v roztoku. Vznik této vazby lze předpokládat při interakci HL s alkalickými kovy nebo amoniakem [2].

Koordinační vazba se uplatňuje při interakcích HL s těžkými kovy, které jsou schopny tento typ vazby vytvářet. Vytváření koordinačních vazeb je tedy důležitý např. při odstraňování toxických kovů z podzemních či odpadních vod. Vznik této vazby je zapříčiněn hlavně přítomností karboxylových a fenolických skupin ve struktuře HL. Velký vliv na vznik koordinační vazby má kromě již zmíněných skupin také hodnota pH a tím tedy míra disociace těchto skupin. Ve slabě kyselém prostředí se na vzniku této vazby podílejí především karboxylové skupiny. Při zvýšení hodnoty pH nad 7 se do tvorby koordinační vazby zapojí i fenolické skupiny. Stabilita vznikajících komplexů tedy roste společně s pH [2].

Kovalentní vazby mohou u HL vznikat buď nekatalyticky, nebo katalyticky pomocí aktivity enzymů. Možnost vzniku kovalentní vazby mezi makromolekulární strukturou HL a kontaminantem je z praktického hlediska předpokladem k imobilizaci kontaminantu. V této souvislosti je důležité zjistit, zda je proces vedoucí ke vzniku vazby reverzibilní, nebo ireverzibilní. Příkladem tohoto typu vázání může být kovalentní vazba anthracenu na HK izolovaných z polyaromáty znečištěné půdy [2].

Na základě prokázané přítomnosti některých funkčních skupin (amidová, laktamová, nitrilová) ve struktuře HL lze předpokládat vznik vodíkových můstků. I přes nízkou vazebnou energii se tato vazba může podílet na vazebných schopnostech mezi HL a kontaminanty [2].

Hydrofobní interakce vznikají při kontaktu nepolárních skupin (např. alkylových) nesených molekulami, které se nachází ve vodném prostředí. Zde mohou tyto interakce vycházet z působení např. van der Waalsových sil nebo přesunu π elektronů. Hydrofobní interakce jsou

hlavně předpokládány při interakcích HL s hydrofobními a alifatickými kontaminanty (např. imobilizace S-triazinových herbicidních látek) [2].

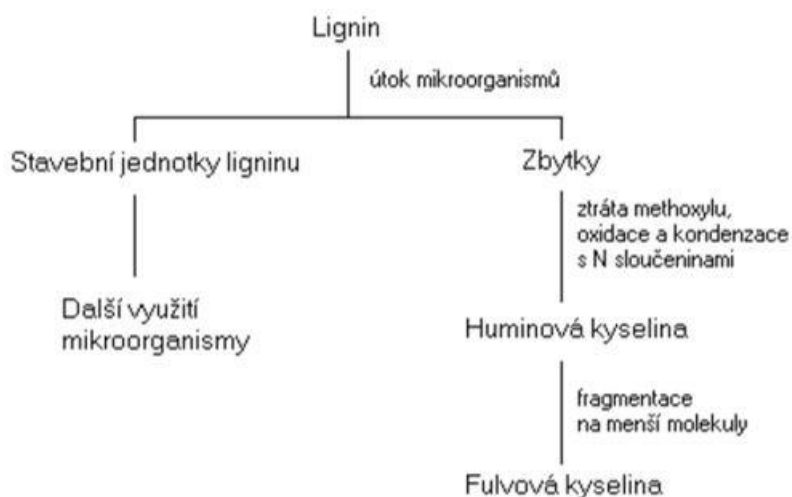
Huminové látky jsou důležitým zdrojem organického uhlíku ve vodním i půdním prostředí. Celkový obsah uhlíku v huminových látkách je odhadován na $60 \cdot 10^{11}$ tun, což převyšuje množství uhlíku přítomného v živých organismech téměř desetkrát ($7 \cdot 10^{11}$ tun). Huminové látky představují směs mnoha látek, které vznikají v procesu humifikace (jako jsou např. aminokyseliny, ligniny, pektiny a polysacharidy). Tyto látky tvoří asociáty prostřednictvím intermolekulárních sil, které mohou být donor-akceptorové, iontové, hydrofilní či hydrofobní povahy. Huminové látky hrají klíčovou úlohu v přírodě, protože přispívají k růstu rostlin, jsou zodpovědné za strukturu a fyzikálně-chemické vlastnosti půdy a taktéž jsou spojeny s většinou povrchových jevů, které nastávají v půdě [1].

2.1.1 Vznik huminových látek

Původ huminových látek je studován již několik let, bohužel jejich vznik není stále zcela jistě nijak a nikým objasněn, existuje pouze několik teorií jejich vzniku, jako například degradační a syntetická teorie [1].

2.1.1.1 Degradační (ligninová) teorie

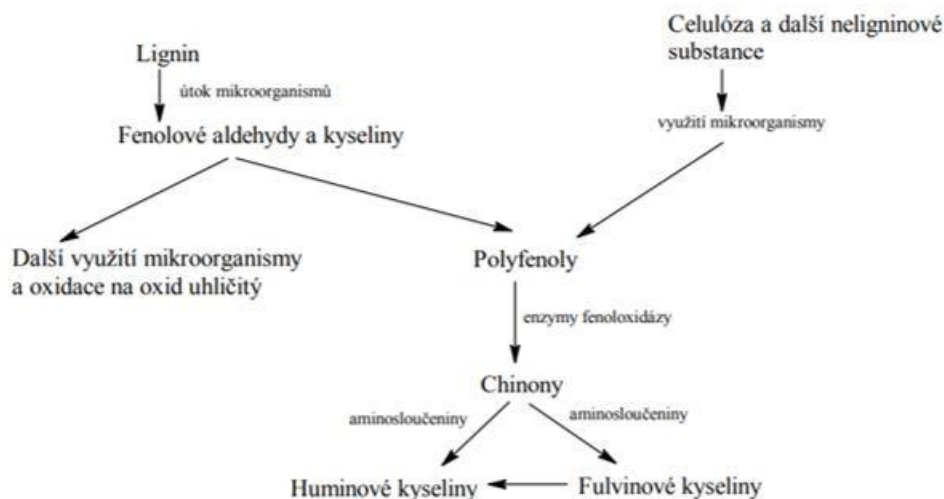
Tato teorie popisuje vznik HL mikrobiálním rozkladem odumřelého rostlinného materiálu, kdy z těžko rozložitelných látek, jako jsou lignin, kutin nebo melanin vznikají vysokomolekulární huminové látky. Ty jsou pak oxidací přeměňovány přes huminové kyseliny a fulvonové kyseliny až na malé molekuly. Jestliže tento mechanismus pokračuje, jsou huminové látky postupně a pomalu rozloženy na oxid uhličitý a vodu [3].



Obrázek 1 Ligninová teorie [3]

2.1.1.2 Polyfenolová teorie

Tato teorie probíhá přesně opačně než degradační. Vycházíme z toho, že rostlinné tkáně jsou degradovány na malé molekuly, jako jsou například karboxylové kyseliny, fenoly atd., a z nich se pak pomocí syntézy tvoří huminové látky. Tudíž by tedy jako první vznikaly fulvinové kyseliny, poté huminové kyseliny a nakonec huminy [4].



Obrázek 2 Polyfenolová teorie [4]

2.1.1.3 Kondenzace cukrů s aminy

Tato teorie nám říká, že huminové látky jsou vytvořeny neenzymatickou kondenzací redukujících cukrů s aminosloučeninou. Aminosloučeniny vznikly jako vedlejší produkt mikrobiálního metabolismu [4].

Iničiační teorie zahrnuje kondenzaci aminoskupiny, kterou poskytne aminokyselina s aldehydickou skupinou redukujícího cukru. Postupným přeskupováním a reakcemi dochází k fragmentaci, odštěpení molekul vody a vzniku aldehydů a ketonů tvořených třemi uhlíky (např. glyceraldehyd a dihydroxyaceton). Všechny tyto molekuly jsou velmi reaktivní a v přítomnosti aminů mohou polymerizovat na produkt hnědé barvy podobný huminovým látkám [5].

Podle této teorie jsou huminové látky tvořeny čistě chemickými reakcemi, ve kterých mikroorganismy nehrají žádnou roli, až na tvorbu cukrů z uhlíkatých látek a aminokyselin z proteinů. Ačkoli jsou tedy reaktanty reakce tvořeny pomocí půdních mikroorganismů, probíhají kondenzační reakce při běžných půdních teplotách pomaleji. Tato reakce se tedy vyskytuje v půdách s nízkým obsahem lignitu a prostředí, kde jsou půdy vystaveny drastickým změnám jako například mrazu, suchu apod. [5].

2.1.2 Zdroje huminových látek

2.1.2.1 Lignit

Spadá do geologicky nejnovějšího typu uhlí. Řadí se mezi uhlí s různým stupněm prouhelnění. To vzrůstá v pořadí dřevo, rašelina, lignit, hnědé uhlí, černé uhlí a antracit. Lignit se v České republice těží především na jižní Moravě v okolí obce Mikulčice. Vzorek z této oblasti obsahuje velký podíl vody a vysoký podíl popela. Využívá se stejně jako uhlí, konkrétně jako palivo, bohužel není moc kvalitní [6].



Obrázek 3 Lignit-vzorek z jihomoravského těžiště (převzato z [7])

2.1.2.2 Rašelina

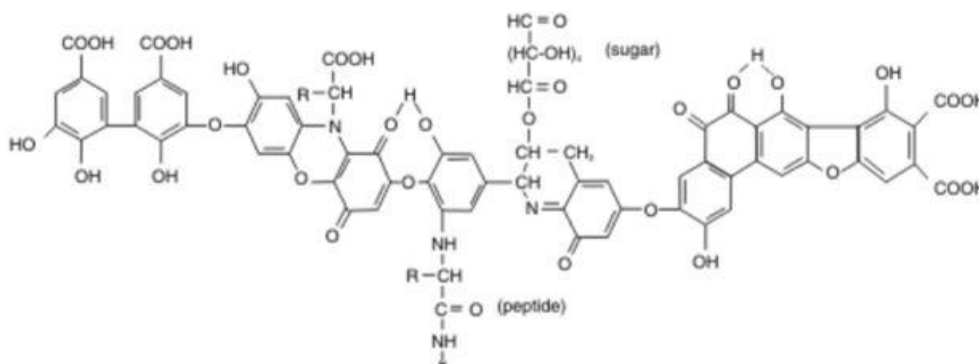
Rašelina je částečně rozložený rostlinný materiál. Skládá se z organických látek (převážně celulózy) a organické kyseliny. Vznikají v rašeliníštích, známější pod názvem bažiny, nebo močály. Během geologického období se z rašeliny stane lignitové uhlí. Rašelina je za správných podmínek počáteční etapou ve tvorbě uhlí. Je využívána jako fosilní palivo, do půdy je přidávána díky své schopnosti zvyšovat vlhkost a také jako stelivo pro dobytek [8].

2.1.2.3 Oxihumolit

Oxidovaná mladá hnědá uhlí, mohou obsahovat až 90 hm. % biochemicky vysoce aktivních huminových látek. V České republice jsou jedny z nejkvalitnějších oxihumolitů na světě, např. oxihumolity z některých lokalit v severních Čechách obsahují více než 80 % huminových kyselin a zároveň mají malý obsah bitumenu ($<0,1$ %) a anorganických sloučenin. V současné době jsou oxihumolity zpracovány především na humát sodný a humát draselný; v omezené míře pak i např. na huminové kyseliny a humáty dalších kovů. Díky nízké ceně oxihumolitů (vznikají jako odpad při těžbě uhlí) a jejich iontové výměnných vlastnostech je uvažováno o jejich dalším možném použití, zejména v úloze sorbentů při čištění odpadních vod, odstraňování těžkých kovů apod [8].

2.1.3 Struktura a vlastnosti huminových látek

Přestože struktura huminových látek je studována několik desetiletí, stále o ní moc nevíme. Jedná se o heterogenní směs, tudíž se nedají popsat jen jedním vzorcem. První návrh předložil Stevenson v roce 1972, v roce 1973 pak Harworth. Oba tyto návrhy používají makromolekulární strukturu huminových látek. Avšak polymerní teorie je považována za tradičnější, starší a dnes již překonanou. Naopak huminové látky jako supramolekulární systém je novější teorie, která je podpořena moderními analytickými metodami. Hlavními aspekty supramolekulární struktury je stabilizace převážně slabými disperzními silami namísto kovalentních vazeb [9].

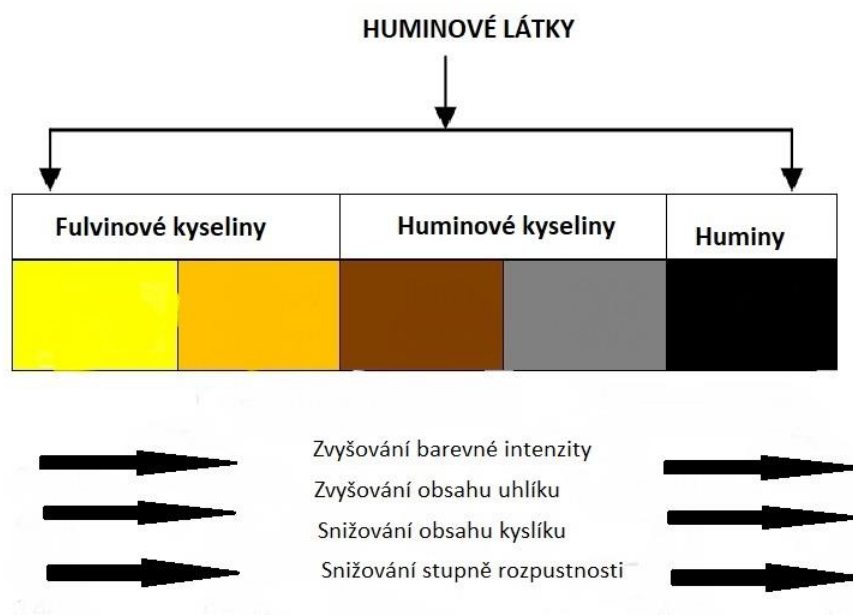


Obrázek 4 Struktura huminové látky podle Stevensona [10]

Vlastnosti huminových látek, jako je rozpustnost ve vodě, schopnost agregace a disociace, nábojové poměry či schopnost vytvářet komplexy s kovovými ionty, úzce souvisejí s jejich složením, které je ovlivněno humifikačními procesy. Vedle těchto procesů jsou také významně ovlivněny velikostí jednotlivých molekul a částic, stupněm jejich dispergace (pravé nebo koloidní roztoky), polaritou, která je dána charakterem skeletu (aromatický nebo alifatický) a hlavně druhy, počty a disociačními schopnostmi funkčních skupin [9]

2.1.4 Dělení huminových látek

Huminové látky dělíme do tří skupin. Při tomto dělení se vychází z jejich různé rozpustnosti huminových látek ve vodném prostředí o různé hodnotě pH. Nejčastěji dělíme HL na fulvinové kyseliny, huminové kyseliny a huminy. Tyto látky se liší na pohled barvou, nicméně jejich chemická struktura je velmi podobná. Barevné rozlišení je možné vidět na Obrázek 5 [11].



Obrázek 5 Rozdělení huminových látek a jejich vlastností (převzato z [12])

2.1.4.1 Fulvinové kyseliny

Fulvinové kyseliny jsou rozpustné ve vodném prostředí při jakékoliv hodnotě pH. Po oddělení huminových kyselin okyselením zůstávají v roztoku. Tyto kyseliny mají světle žluté až žlutohnědé zbarvení. Ve srovnání s huminy a huminovými kyselinami mají nižší molekulovou hmotnost, mají méně aromatických struktur, více alifatických postranních řetězců, a také více homogenní strukturu. Liší se i elementárním složením. Fulvinové kyseliny mají oproti HK vyšší obsah kyslíku, ale naopak nižší obsah uhlíku. Obsahují vyšší počet funkčních skupin kyselého charakteru, jsou tedy podstatně kyslejší než HK. Hlavní rozdíl v obsahu funkčních HK a FK je ten, že ve FK je téměř veškerý kyslík obsažený v COOH, OH a C=O skupinách, zatímco v HK je kyslík součástí etherových a esterových vazeb. FK se od HK také liší tím, že je u nich vyšší obsah ketonových C=O skupin, zatímco v HK se nacházejí skoro jen chinonové C=O skupiny [13].

2.1.4.2 Huminové kyseliny

Huminové kyseliny se dají rozpustit ve zředěných alkalických roztocích, po okyselení se vysráží. Jsou rozpustné při vysokých hodnotách pH, nerozpouští se ale v kyselém prostředí. Mají mnoho fyzikálně-chemických vlastností, jako jsou redoxní schopnosti, citlivě reagují na světlo a jsou povrchově aktivní. Ve své molekulové struktuře mají jak hydrofobní, tak hydrofilní části, proto se snadno sorbují na povrchu částic. Huminové kyseliny obsahují aromatické jádro fenolického nebo chinoidního typu s dusíkatými sloučeninami cyklickými nebo alifatickými [14].

2.1.4.3 Huminy

Huminy jsou látky s nejvyšší molekulovou hmotností. Jsou velice podobné huminovým kyselinám, jen nemají karboxylové a hydroxylové skupiny. Mají aromatický charakter, obsahující alkyl skupiny s bočními řetězci. Nejsou rozpustné ve vodě za žádných podmínek. Jejich nerozpustnost vychází z pevné vazby s anorganickou složkou půdy. Zbarvení je většinou černé [15].

2.1.5 Využití huminových látek

Přestože byly účinky huminových látek objasněny později, byl humus hojně využíván na úrodu půdy již v minulosti. Huminové látky se vyskytují v uhlí, to má bohaté využití v energetickém průmyslu. Největší využití huminových látek v dnešní době je především v zemědělství, průmyslu, na ochranu životního prostředí a také ve farmacii [16].

2.1.5.1 HL v zemědělství

HL se účastní mnoha procesů, které ovlivňují jak fyziologické a chemické vlastnosti půdy, ale také růst a kvalitu rostlin. Proto jsou jednou z důležitých přísad do hnojiv, pesticidů nebo půdních kondicionérů. HL mají jisté sorpční schopnosti, díky kterým dochází k výživě půdy. HL na sebe mohou také vázat i molekuly vody, využití má hlavně při nedostatku vláh. Tyto molekuly jsou pak desorbovány, což vede ke stabilizaci a půdy a lepším podmínkám pro pěstování rostlin [17].

2.1.5.2 HL v průmyslu

HL jsou součástí uhlí, a tak byly často využívány v průmyslu, nicméně se tento typ výroby energie omezil z ekologického důvodu. Používají se také ve stavebnictví jako hydrofobní plniva cementů, jelikož ovlivňují některé vlastnosti, jako například smáčivost, disperzitu nebo tuhnutí. Využívají se také jako náplně do chromatografických kolon, a to díky svým chelatačním a iontově výměnným schopnostem. HL se dále ještě používají v kožedělném, keramickém nebo textilním průmyslu [17].

2.1.5.3 Aplikace v ochraně životního prostředí

Na ochranu životního prostředí je využito sorpčních vlastností HL. Huminové látky na sebe mohou vázat pesticidy, detergenty, těžké kovy, barviva a jiné škodlivé látky, mající negativní dopad na půdu, vodu a vzduch. Pomocí huminových kyselin mohou být tyto škodlivé látky pomocí imobilizace z ekosystému odstraněny [16].

2.1.5.4 HL ve farmacii

Kvůli zbarvení HL má aplikace ve farmacii značné omezení, zbarvení není snadné odstranit. Ovšem nějakých pozitivních vlastností bylo dosaženo, konkrétně při léčbě rakoviny dělohy prováděné na laboratorních zvířatech. Tyto látky se podobají účinkům heparinu nebo estrogeneru, a tak byly některé deriváty HL označeny jako terapeutika. Dále je možné HL využít v kosmetice, kde se používají k léčebným zábalům a bahenním lázním [18].

2.1.6 Huminové kyseliny

2.1.6.1 Charakteristika

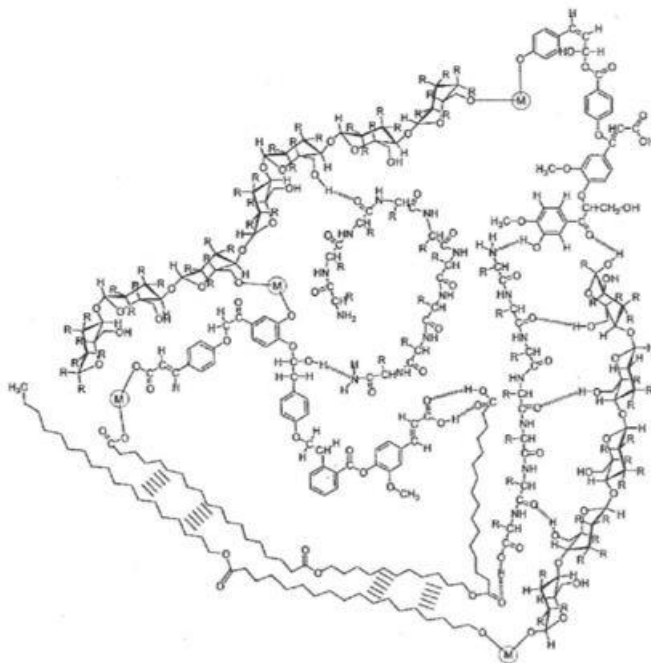
Huminové kyseliny jsou složkou organické hmoty, vyskytují se v půdách nebo vodách. Mohou se vyskytovat jak volné, tak vázané na různé kovy, např. železo, hliník, vápník [19].

HK pomáhají v přenosu mikronutrientů z půdy k rostlině, zvyšují také zadržování vody. V tomto důsledku rovněž zvyšují rychlosti klíčení semen a stimulují rozvoj mikroflóry v půdách [19].

2.1.6.2 Struktura

HK popisujeme jako látky, skládající se z různých aromatických látek spojených alifatickými, sirnými, dusíkovými nebo kyslíkovými můstky. Tyto látky mají alifatické, peptidické a lipidické povrchové řetězce a chemicky aktivní funkční skupiny. Z funkčních skupin je zastupují hlavně karboxylové a hydroxylové (fenolické a enolické) skupiny. Jejich společným znakem je vysoká stabilita vůči degradaci [19].

Ve struktuře HK se mohou objevit aromatické a hydroaromatické di-, tri-, tetrakyseliny. Spojení mezi aromatickými skupinami zajišťují AK, aminocukry, peptidy a alifatické sloučeniny. Vykazují polyaniontový charakter, a tudíž mohou vázat kationty jak chemickými, tak fyzikálními mechanismy [20].



Obrázek 6 Teoretický strukturní vzorec huminové kyseliny, M=kation kovu, krátce čárkované spoje značí vodíkové vazby a dlouze čárkované hydrofobní interakce (převzato z [21])

2.1.7 Interakce huminových kyselin s organickými sloučeninami

2.1.7.1 Interakce s pesticidy

Pesticidy se řadí mezi chemikálie organického i anorganického původu. Jsou používány k hubení rostlinných nebo živočišných škůdců. Nejvíce se využívají v zemědělství, proti ztrátám na rostlinách, krmivech nebo technickým produktům [22].

Při interakci pesticidů (paraquatu a MCPA) s huminovými látkami se zkoumal vliv pH a iontové síly. Kationtový paraquat reagoval s kyselými skupinami huminových kyselin, docházelo k výměnnému kationtovému mechanismu, vaznost pesticidu tedy závisela na stupni ionizace kyselin. Tudíž množství navázaného paraquatu roste s rostoucím pH a klesá s rostoucí iontovou silou roztoku. Navázané množství druhého zkoumaného pesticidu bylo nevýznamné, poněvadž byl tento pesticid v aniontové formě. Pesticidy se tudíž s HK vázaly pomocí elektrostatických sil. Avšak při nízkém pH, kdy byly HK jen málo ionizované, převažovaly při vazbě pesticidu s kyselinami van der Waalsovy síly a vodíkové vazby [22].

2.1.7.2 Interakce s barvivy

Mnoho studií již zkoumalo adsorpci organických barviv na huminové kyseliny. Z různých experimentálních prací lze zjistit, že adsorpci barviv obstarávají funkční skupiny huminových kyselin. Množství barviva, které se naváže, je ovlivněno hodnotou pH, množstvím HK nebo teplotou. Při zkoumání vaznosti mezi oxazinem a huminovými kyselinami v závislosti na pH se potvrdilo, že vazebná schopnost HK roste s rostoucím pH. Pokud se koncentrace elektrolytu snižuje, roste vaznost mezi HK a oxazinem. Závislost vazby na koncentraci elektrolytu byla významnější než závislost na hodnotě pH a předpokládalo se, že na spojení obou látek se mohla podílet jak reakce negativních skupin HK s kationty barviva, tak interakce hydrofobních regionů [23].

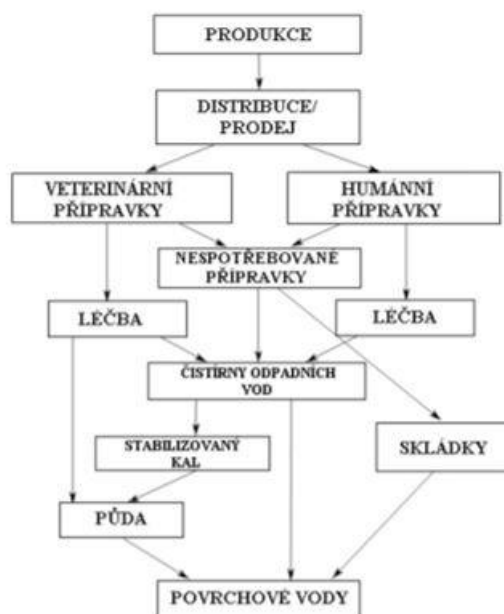
2.1.7.3 Interakce s léčivy

Léčiva zasahují do životního prostředí, a to tím, že vstupují do odpadních vod během jejich výroby nebo při spotřebě v medicíně. Odpadní vody ale prochází procesem přečištění, tudíž může být množství léčiv sníženo. Horší varianta nastává, pokud obyvatelé nevhodně zlikvidují léčiva, která se pak dostanou do komunálního odpadu, odkud se dostanou na skládku. Odtud jsou pomocí větru nebo srážek rozptýleny do okolí, nejvíce do půdy, kde následně dochází k interakcím mezi danými léčivy a půdou [24].

Je dobře známo, že huminové kyseliny z rašeliny a hnědého uhlí mají biologickou aktivitu, proto přípravky založené na HK jsou považovány za slibné pro vývoj nových léků s lepším účinkem. Pomocí experimentální práce byly studovány interakce nativní sodné humátové makromolekuly s připraveným léčivem (papaverin, benzohexonium, vitamíny B6 a B1) kalorimetrickou titrací. Ve všech testovacích vzorcích byly interakce doprovázeny uvolňováním tepla [24].

2.1.8 Léčiva

Léčiva jsou látky sloužící k předcházení, léčení anebo zmírnění projevů chorob. Takovéto látky jsou člověkem využívány od nepaměti. Počátky farmacie se datují již kolem 5. století před naším letopočtem. V té době se však jednalo spíše o využívání různých látek rostlinného a živočišného původu v malých množstvích. Používání léčiv procházelo různými stupni vývoje úzce spjatými především se znalostmi v soudobé chemii. Jeden z nejmarkantnějších rozmachů pak přišel po 2. světové válce a ve spojení s vědeckotechnickou revolucí trvá dodnes. Účinné látky se vyrábějí průmyslově, dochází k jejich rozsáhlému užívání (často i nadužívání) a zákonitě se tak musí projevit jejich výskyt v životním prostředí. Distribuce farmak do životního prostředí se poněkud liší v porovnání s tradičními polutanty. Primárním zdrojem odpadních léčiv a jejich metabolitů jsou pacienti nebo např. ženy užívající hormonální antikoncepci. Aktivní látky jsou po užití léku z těla vylučovány buď v nezměněné podobě nebo ve formě jejich metabolitů prostřednictvím výkalů a moči a odcházejí díky splaškům až na čistírny odpadních vod (ČOV). Zde však nejsou některé z nich dostatečně zachycovány a přecházejí tak dále do recipientu, kde následně mohou působit na říční biocenózu a také se transportovat do dalších částí ekosystému. Není tak vyloučena ani kontaminace podzemních vod a pitných zdrojů, čímž se vlastně pomyslný koloběh těchto látek uzavírá [25].

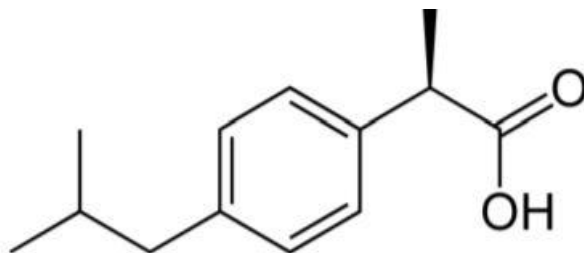


Obrázek 7 Tok léčiv a jejich metabolitů do životního prostředí [25]

2.1.8.1 Ibuprofen

Ibuprofen je světově nejpoužívanějším léčivem při léčbě mírné a středně silné bolesti a zánětu. Topické léky obsahující ibuprofen (krémy, gely, pěny a spreje) jsou bezpečnější alternativou k lékovým formám se systémovým účinkem ibuprofenu. Při perorálním, rektálním nebo intravenózním užívání ibuprofenu je důležité optimalizovat dávkování podle hmotnosti

pacienta a indikace, aby se minimalizoval výskyt nežádoucích účinků. Ibuprofen se používá ve formě kyseliny nebo jejích rychleji rozpustných solí-sodné, lysinu, argininové. Na perorální užívání je ibuprofen dostupný ve formě tablet první a druhé generace, želatinových kapslí, šumivých tablet a granulátů, dispergovatelných tablet, sirupů a suspenzí. Pro zvýšení analgetického účinku je možné použít kombinaci ibuprofenu s paracetamolem, kofeinem nebo opioidními léčivy. Při léčbě chřipky a nachlazení jsou vhodné jeho kombinace s pseudoefedrinem, fenylefrinem a chlorfeniramin. Při léčbě bolesti spojené s nespavostí je dostupná v zahraničí kombinace s difenhydraminem a pro pacienty s artritidou je dostupná kombinace ibuprofenu s famotidinem [26].



Obrázek 8 Strukturní vzorec ibuprofenu

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V posledních desetiletích osud přírodních organických látek a zejména huminových látek přitahuje čím dál více zájmy vědců zastupujících různé disciplíny. Mezi různými organickými látkami, které se vyskytují přirozeně, jsou huminové látky nejrozšířenější. Jsou přítomny v půdě, vodě, rašelině, hnědém uhlí. HL představují asi 25 % celkového organického uhlíku na zemi. Tyto látky představují třídu přirozeně se vyskytujících komplexních molekulárních struktur tvořených agregačními a shromažďovacími procesy, jimiž se biomolekuly pocházející z rostlinných a živočišných zbytků postupně transformují biotickými a abiotickými cestami. Výzkum HL je složitý, protože tyto organické sloučeniny jsou vázány nebo spojeny s minerálními frakcemi půdy, a vyžadují fyzikální nebo chemickou separaci od anorganických složek extrakčním procesem před jejich fyzikálně-chemickou analýzou. Nejefektivnější z těchto separačních postupů předpokládáme extrakci alkalickými látkami, které funkčně identifikují tři frakce HL, založené na jejich rozpustnosti ve vodě; fulvová kyselina-rozpustná při všech hodnotách pH; kyselina huminová (HK) - není rozpustná v kyselých podmínkách ($\text{pH} < 2$), ale je rozpustná v roztoku s vyššími hodnotami pH; huminy-nerozpustné ve vodě při jakékoliv hodnotě pH [27].

V poslední době bylo navrženo velmi kontroverzní stanovisko, že v půdě neexistují huminové látky, a že alkalické extrakty by neměly být používány jako zástupci pro přirozeně se vyskytující organickou hmotu nebo její podskupinu. Je pravda, že výzkum huminových látek se týká vyšetřování produktů získaných v důsledku jejich extrakce. Některé výzkumné technologie používané pro huminové látky vyžadují extrahovaný a vyčištěný materiál, zatímco jiné ne. Funkce a reakce HL nevyžadují nutně extrakci a také některé studie používající C^{13} -NMR spektra ve srovnání se spektrem extrahovaného materiálu. Obě spektra byly shodné, což naznačuje, že extrakce nemění strukturu HL. Alkalická těžba půdy a přírodních vod produkuje frakce organické hmoty, které mají velký ekologický význam a podílejí se na environmentálních procesech. Výzkumy HL jsou tedy jediným způsobem, jak prozkoumat a zpracovat důležitou a komplexní úlohu těchto látek v ekosystému [27].

Nicméně, hnací silou rostoucího zájmu o HL je rostoucí fakt o jejich obrovské roli v suchozemských a vodních systémech, jakož i jejich biostimulačních účincích na růst rostlin. Půdy obsahují více organického uhlíku než atmosféra. Proto by mineralizace půdní organické hmoty a uvolňování uhlíkových a humifikačních procesů mohly významně ovlivnit globální klimatické změny. HL jsou známy jako hlavní součást půdy a jsou rozhodující pro lidské blaho v důsledku své role při výrobě potravin, krmiva a vlákniny. Úzce se týkají biogeochemického cyklu živin a antropogenních organických látek, stejně jako některých znečišťujících prvků. V důsledku toho mohou HL ovlivnit záchyt kontaminujících látek nebo vyplavování do podzemních vod [27].

Vzhledem k úloze HL v mnoha složitých chemických a biochemických reakcích v půdách, HL obecně určují kvalitu půdy a jsou zásadní složkou pro udržení úrodnosti půdy. Schopnost fulvo kyselin a HK disociovat H^+ ionty z různých funkčních skupin (většinou karboxylové a fenolové) vede k široké řadě různých záporných nábojů, které výrazně přispívají ke kapacitě výměny kationtů půdy. Sorpční kapacita HL, zejména FK, přesahuje až desetkrát sorpční

kapacitu minerálních složek půdy a často převládá jejich sorpčními vlastnostmi, zejména v písčinných půdách. HL mají také rozhodující vliv na kapacitu pufování půdy. Dále ovlivňují fyzikální, chemické a biologické vlastnosti půd v mnohem větší míře než jiné složky půdní hmoty. Zvýšení obsahu HL, zejména HK v přítomnosti Ca, způsobuje tvorbu stabilních agregátů, což pozitivně ovlivňuje kapacitu vodní hladiny, kapacitu vzduchu, poréznost a propustnost různých typů půd. Důležitá ztráta, zejména HK, přispívá ke zvýšení kompaktnosti půdy, zejména v písčinných půdách, ke snížení provzdušňování půdy a následnému výskytu redukčních chemických podmínek. Mimo jiné tmavé barvy HL způsobují zvýšení absorpce slunečního světla a zlepšení tepelných vlastností půd, což je důležité zejména na začátku vegetačního období. Jsou také hlavním zdrojem energie pro rozklad organické hmoty. Při aerobní oxidaci různých odpadních materiálů (kompostování) se vytvářejí HS, potenciálně recyklované do půdních změn a prospěšné pro plodnost a kvalitu půdy [28].

Půdní organická hmota je hlavním zdrojem organického uhlíku ve vodních systémech, a proto jsou HL důkladně zkoumány společenstvím chemiků. Uhlík je nejen důležitý jako součást globálního uhlíkového cyklu, ale také pro lokální biogeochemické procesy v řekách, potocích a jezerech. Vodní HL přímo a nepřímo ovlivňují vodní ekosystémy i živé organismy. Z dlouhodobého hlediska mají rozpuštěné HL především vliv na fyzikální a chemické vlastnosti vod a mohou působit jako nejdůležitější čistící přírodní složky v tomto prostředí, např. stimulací biotransformace xenobiotik. Z krátkodobého hlediska mohou působit jako zdroj organických živin, a také vykazují schopnost regulovat bio-koncentraci a toxicitu xenobiotik a těžkých kovů. Rozpuštěné HL jsou hlavním faktorem ovlivňující optické vlastnosti přírodních vod. Mají také přímý dopad jak na množství, tak na kvalitu světla ve vodách. Silná specifická UV absorpce činí HL jako přírodní biogeochemický filtr proti specifickému UV záření. Důležitou otázkou je chemické odstraňování znečišťujících látek v technologiích úpravy vody a čištění vody. Na druhou stranu jsou HK považovány za látky působící také jako kontaminující látky v důsledku jejich reakcí s dezinfekčními látkami, které mohou vytvářet vedlejší produkty, které jsou toxické pro člověka [28].

Existuje velmi málo zpráv o praktických aplikacích HL v sanaci životního prostředí. Většina z nich využívala humáty k odstranění kovů z vody nebo z imobilizovaných těžkých kovů v půdě. Rovněž byly zaznamenány aplikace pilotních stupňů HL pro odstraňování ropných produktů z podzemních vod. Nedávno společnost Conestoga-Rovers & Associates ve spolupráci s organizací U-Mate International zahájila studie o léčivosti a pilotní studie malého rozsahu o aplikaci humátů v sanaci životního prostředí. Studie zahrnovaly biochemické a chemické testy různých těžkých kovů a organických polutantů. Účelem biochemických testů bylo stanovení vlivu humátů na zmírnění toxických účinků těžkých kovů a organických polutantů na biologické aktivity aktivovaného kalu. Účelem chemických testů bylo vyhodnotit aplikaci humátů pro imobilizaci těžkých kovů ve vodním a půdním prostředí. Počáteční výsledky biochemických studií naznačují, že humáty mohou detoxikovat organické a anorganické inhibitory biologických procesů a zvýšit biodegradaci toxických organických látek [28].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie a spotřební materiál

K experimentům byly použity následující chemikálie:

- Ibuprofen-Sigma-Aldrich (SRN)
- Čistá voda čištěná přístrojem PURELAB-flex
- Huminové kyseliny s označením PKS a PBS [29]

4.2 Použité přístroje

- Centrifuga Rotina 46R Hettich
- UV-VIS Spektrofotometr HITACHI U-3900H
- Analytické váhy SCALTECH
- pH metr METTLER TOLEDO, Seven Easy
- konduktometr METTLER TOLEDO
- Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series
- FT-IR spektrometr Nicolet iS50

4.3 Příprava vzorků a roztoků potřebných pro měření

4.3.1 Zásobní roztok a jeho zkoncentrované roztoky

V první experimentální části měření bylo naváženo 0,1605 mg Ibuprofenu, převedeno do 1000 ml odměrné baňky a doplněno destilovanou vodou po rysku. Následně byly připraveny ředěním roztoky o koncentracích 0,4125 µg/l, 4,125 µg/l, 82,5 µg/l, 825 µg/l a 8250 µg/l.

8250 µg/l → 50 ml ze zásobního roztoku do 100 ml baňky, doplněn vodou.

825 µg/l → 10 ml z roztoku o koncentraci 8250 µg/l do 100 ml baňky, doplněn vodou.

82,5 µg/l → 10 ml z roztoku o koncentraci 825 µg/l do 100 ml baňky, doplněn vodou.

4,125 µg/l → 5 ml z roztoku o koncentraci 82,5 µg/l do 100 ml baňky, doplněn vodou.

0,4125 µg/l → 10 ml z roztoku o koncentraci 4,125 µg/l do 100 ml baňky, doplněn vodou.

Ve druhé experimentální části měření bylo rozpuštěno 0,0205 g Ibuprofenu v 1000 ml vody. Z tohoto zásobního roztoku bylo připraveno 5 koncentrací: 5000 µg/l, 4000 µg/l, 3000 µg/l, 2000 µg/l a 1000 µg/l.

5000 µg/l byl připraven odebráním 25 ml ze zásobního roztoku do 100ml odměrné baňky a doplněn vodou.

4000 µg/l → 10 ml ze zásobního roztoku do 100 ml baňky, doplněn vodou.

3000 µg/l → 15 ml ze zásobního roztoku do 100 ml baňky, doplněn vodou.

2000 µg/l → 5 ml ze zásobního roztoku do 100 ml baňky, doplněn vodou.

1000 µg/l → 5 ml ze zásobního roztoku do 100 ml baňky, doplněn vodou.

4.4 Postup práce

Měření bylo rozděleno na dvě experimentální části. V první části měření se pracovalo s koncentracemi v rozsahu 0,4125-8250 µg/l, ve druhé části měření se připravily roztoky v rozsahu 1000-5000 µg/l.

V prvním experimentálním měření se použily vzorky huminových kyselin s označením PKS, které nám dodalo Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí (Recetox). Každá koncentrace se měřila vždy třikrát a byly připraveny i tři slepé vzorky, kdy se smíchal vzorek s 25 ml destilované vody. V odstředivé baňce bylo naváženo vždy 0,5 g (naváženy na analytických vahách) vzorku huminových kyselin a smícháno s 25 ml daného roztoku (v případě slepých vzorků smícháno s vodou).

Baňky byly ponechány 48 hodin na magnetické míchačce. Poté byly vzorky odstředěny pomocí centrifugy a část vzorku byla zfiltrována přes nylonový filtr o průměru 0,45 µm. U všech vzorků pak bylo proměřeno pH, vodivost, UV-VIS spektrum, poté byla stanovena koncentrace ibuprofenu v roztocích na kapalinovém chromatografu. Usazená část byla usušena, zvážena a následně použita na další měření (desorpci). Jedná se o stejné měření, stejný postup, jen místo naředěných roztoků bylo u všech vzorků použito 25 ml destilované vody.

Ve druhé experimentální části se na měření použily vzorky huminových kyselin s označením PBS dodané Centrem pro výzkum toxických látek v prostředí, (Recetox) sídlící na Masarykově univerzitě. Postup přípravy vzorků byl zcela totožný s první experimentální částí.

Bylo také změřeno FT-IR spektrum, kdy se měřily vzorky o koncentraci 5 mg/l. Na každé měření se použily 2 mg vzorku na 100 mg bromidu draselného.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

V experimentální části byly použity dva vzorky huminové kyseliny, které byly vyizolovány z maďarské půdy, konkrétně v nížině Kecskemetpuszta (PKS) a Bugacpuszta (PBS). Přesné složení můžete najít v článku. V prvním měření byl použit vzorek s označením PKS, u druhého se použily vzorky s označením PBS [29].

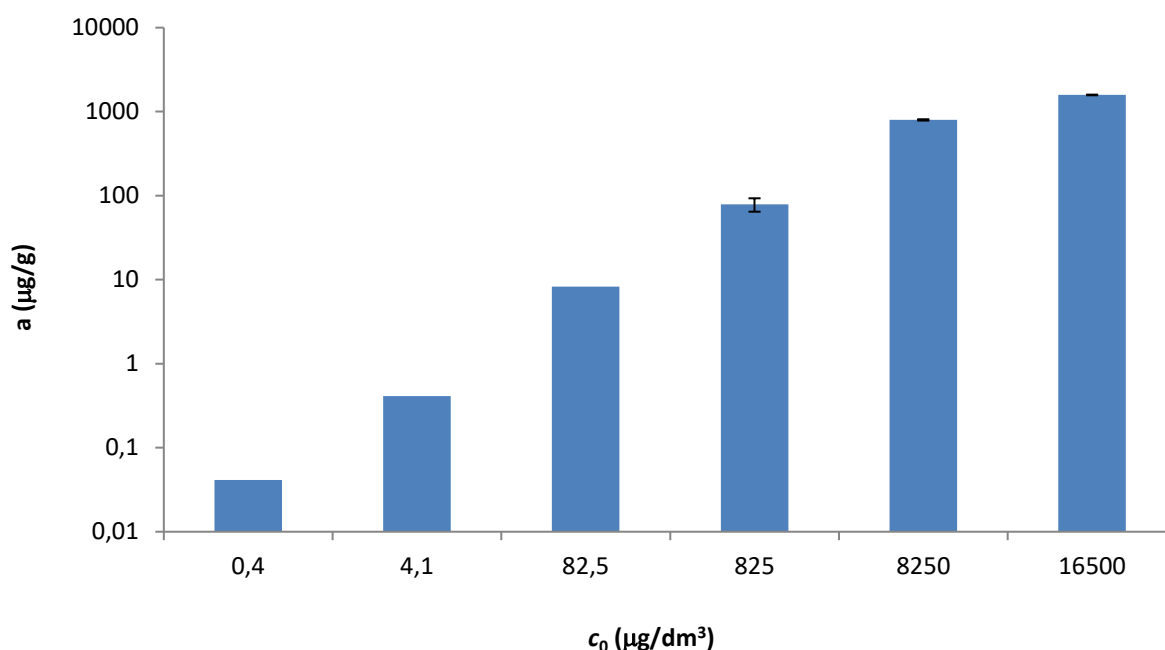
Cílem bylo zjistit, zdali dochází k interakcím huminových kyselin s Ibuprofenem, jaká je účinnost adsorpce a jak pevně je Ibuprofen vázán ve vzniklých komplexech.

5.1 Experimentální měření č.1

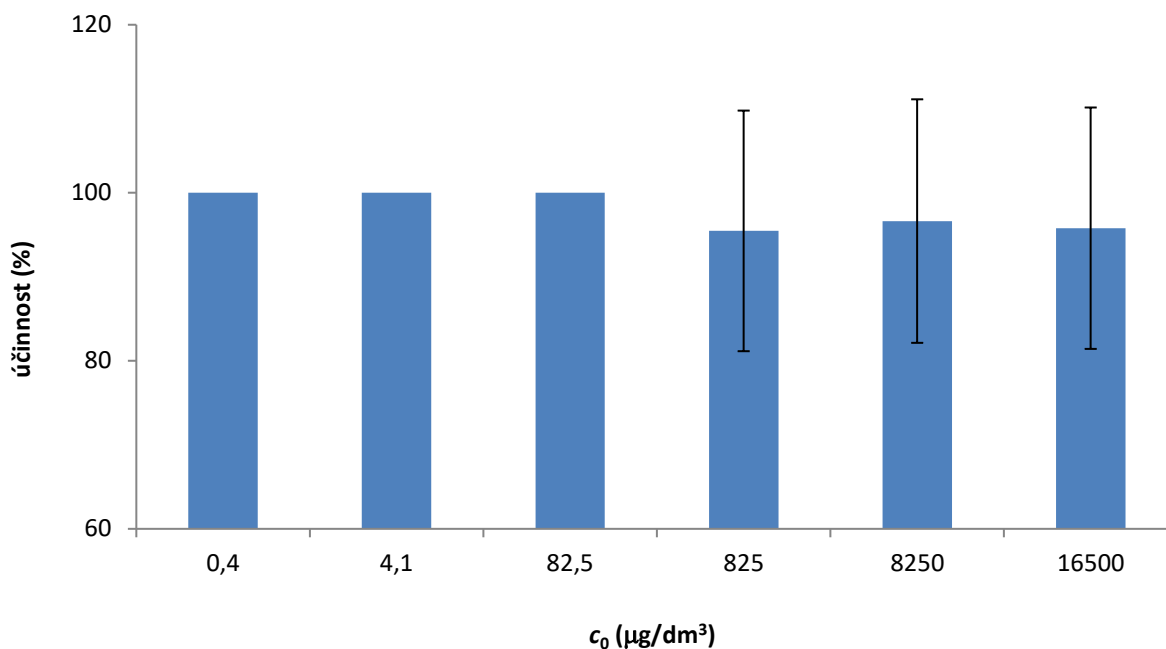
V první fázi byl vybrán široký rozsah koncentrací Ibuprofenu (0,4125-8250 $\mu\text{g/l}$) a bylo nutné optimalizovat metody stanovení Ibuprofenu pomocí UV-VIS spektrometrie a kapalinové chromatografie. Tato stanovení byla doplněna měřením pH a vodivosti roztoků.

5.1.1 Kapalinová chromatografie

Na Obrázku 9 jsou znázorněna adsorbovaná množství Ibuprofenu v závislosti na jeho počáteční koncentraci. Množství adsorbovaného ibuprofenu se zvyšuje s jeho koncentrací v roztoku. Účinnost adsorpce byla velmi vysoká. Při použití méně koncentrovaných roztoků Ibuprofenu byla jeho koncentrace po adsorpci hluboko pod detekčním limitem přístroje a účinnost tak dosahovala až 100 %.



Obrázek 9 Graf závislosti adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

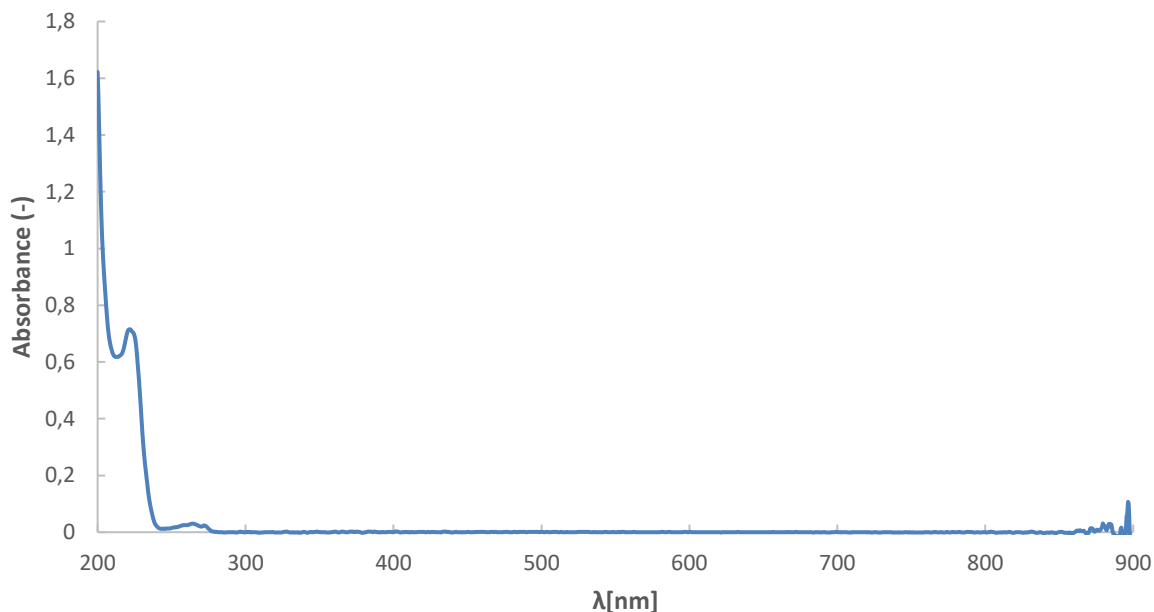


Obrázek 10 Graf závislosti účinnosti adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

Při použití koncentrovanějších roztoků Ibuprofenu bylo možné stanovit zbytkovou (rovnovážnou) koncentraci pro adsorpci, ovšem chyba stanovení byla poměrně vysoká. I v těchto případech byla účinnost adsorpce kolem 95 % (viz Obrázek 10). I přesto, že roztoky byly zakonzentrovány pomocí SPE extrakce, kdy došlo k přečištění vzorků, nebyly výsledky uspokojivé. Dále také bylo zjištěno, že je potřeba vyměnit v přístroji kolonu, tudíž ta špatná kolona mohla ovlivnit první část měření. Došlo ke změně módu nastavení, měřilo se v pozitivním módu, sledoval se specifický ion pro Ibuprofen 161 m/z (v roce 2018 se MS scan prováděl v negativním módu, kdy se sledoval ion 205 m/z).

5.1.2 UV-VIS spektrometrie

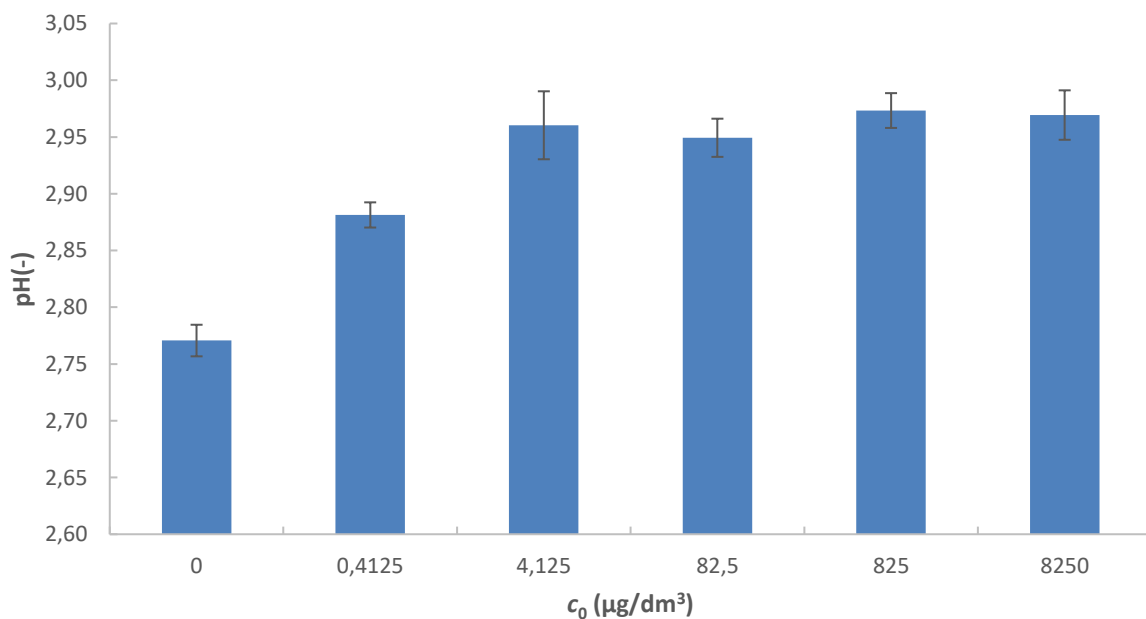
V této úvodní fázi experimentální části práce nebylo možné stanovit koncentrace Ibuprofenu po adsorpci a desorpci, protože rozdíly v absorbancích mezi roztoky po sorpčních experimentech a slepými vzorky (výluhy huminových kyselin do vody) byly příliš malé. Na Obrázku 11 je závislost absorbance na vlnové délce roztoku Ibuprofenu, kdy spektrum Ibuprofenu má dvě maxima, kolem 220 a 265 nm. V této oblasti absorbují i HK, proto se musely měřit i výluhy s vodou.



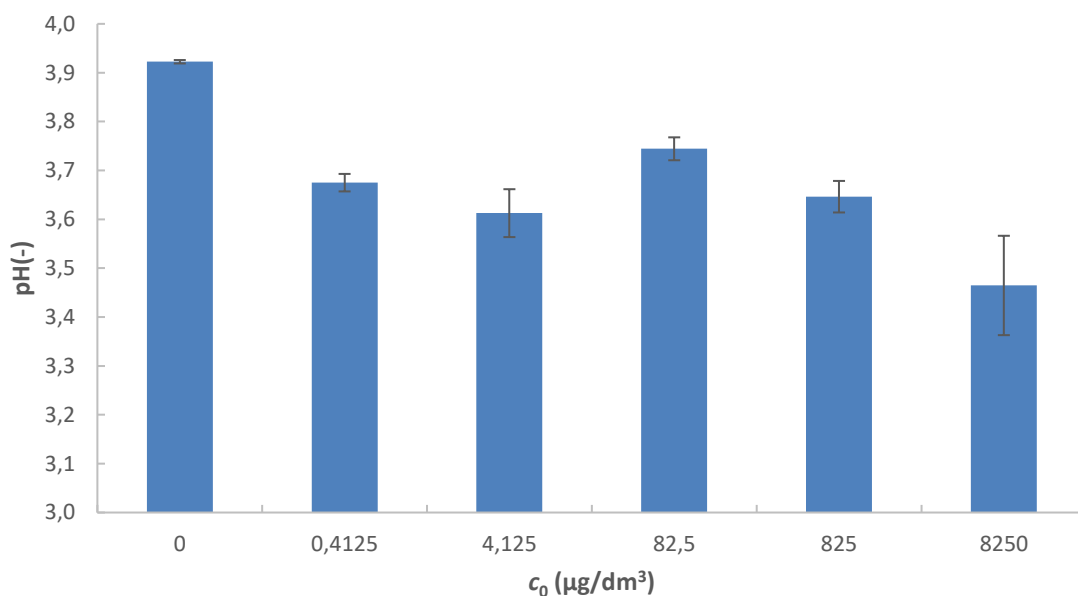
Obrázek 11 Graf závislosti absorbance na vlnové délce roztoku Ibuprofenu

5.1.3 pH

Hodnoty pH se pohybovaly v rozmezí 2-4, což vykazuje kyselý charakter. Je to z toho důvodu, že huminové kyseliny mají jako funkční skupiny karboxylové kyseliny, které jim udělují kyselý charakter. U desorpce je hodnota pH vyšší, jelikož zde se již vyluhovalo méně HK. To důležité se vyluhovalo při adsorpci a u desorpce se po slití roztok nahradil za destilovanou vodu.



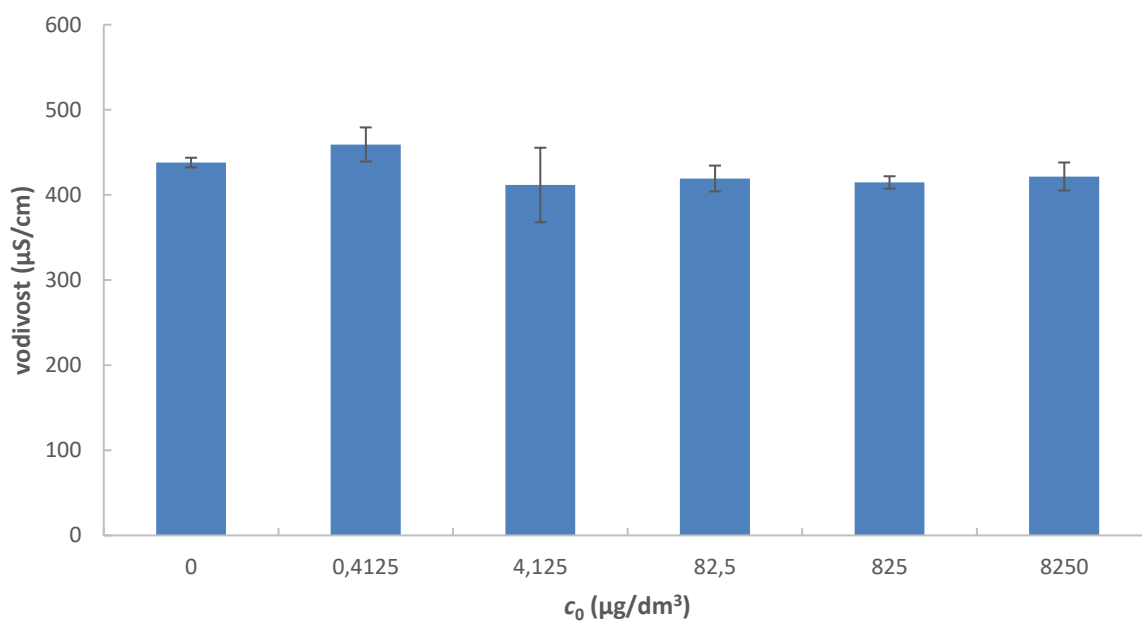
Obrázek 12 Graf závislosti pH adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu



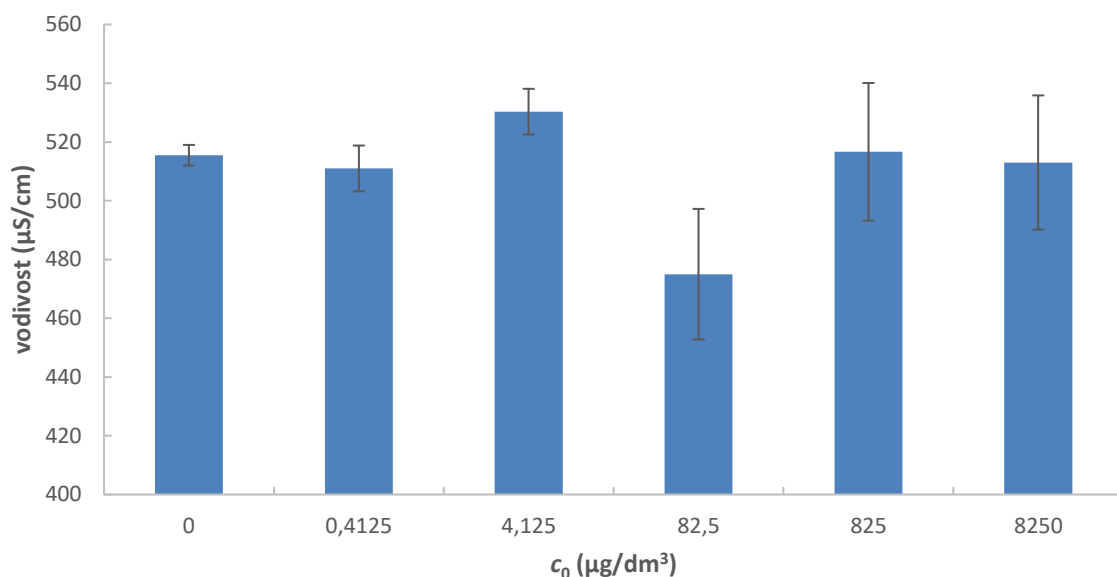
Obrázek 13 Graf závislosti pH desorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

5.1.4 Vodivost

Vodivost roztoků je dána přítomností iontů. Její hodnoty závisí na charakteru (typu) a množství (koncentraci) iontů. V našem případě se hodnoty pohybovaly nejčastěji v rozmezí 400-500 $\mu\text{S/cm}$ bez závislosti na koncentraci Ibuprofenu. Výsledky naznačují, že vodivost je způsobena hlavně ionty pocházejícími z huminových kyselin, přičemž (vzhledem k hodnotám pH) se při desorpci na hodnotách vodivosti podílejí vyšší měrou jiné než oxoniové ionty.



Obrázek 14 Graf závislosti vodivosti adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu



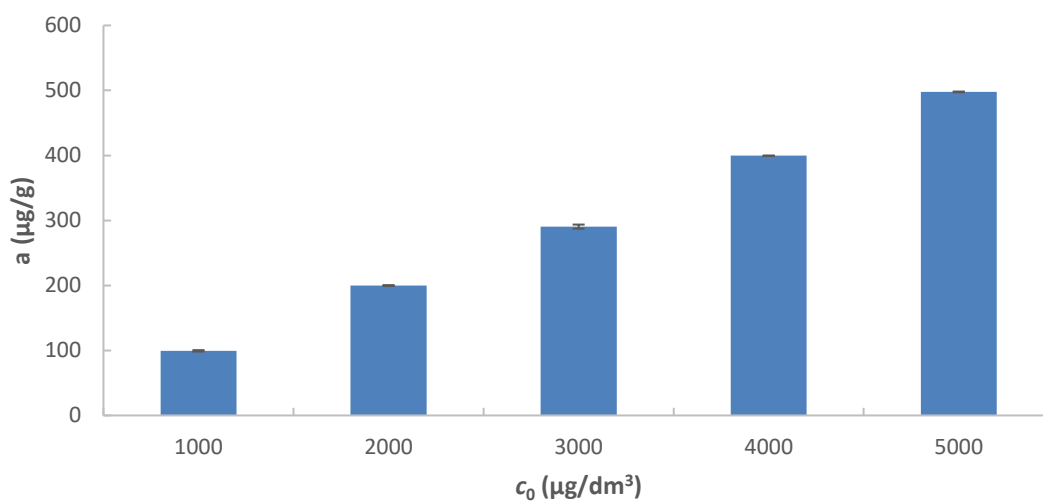
Obrázek 15 Graf závislosti vodivosti desorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

5.2 Experimentální měření č.2

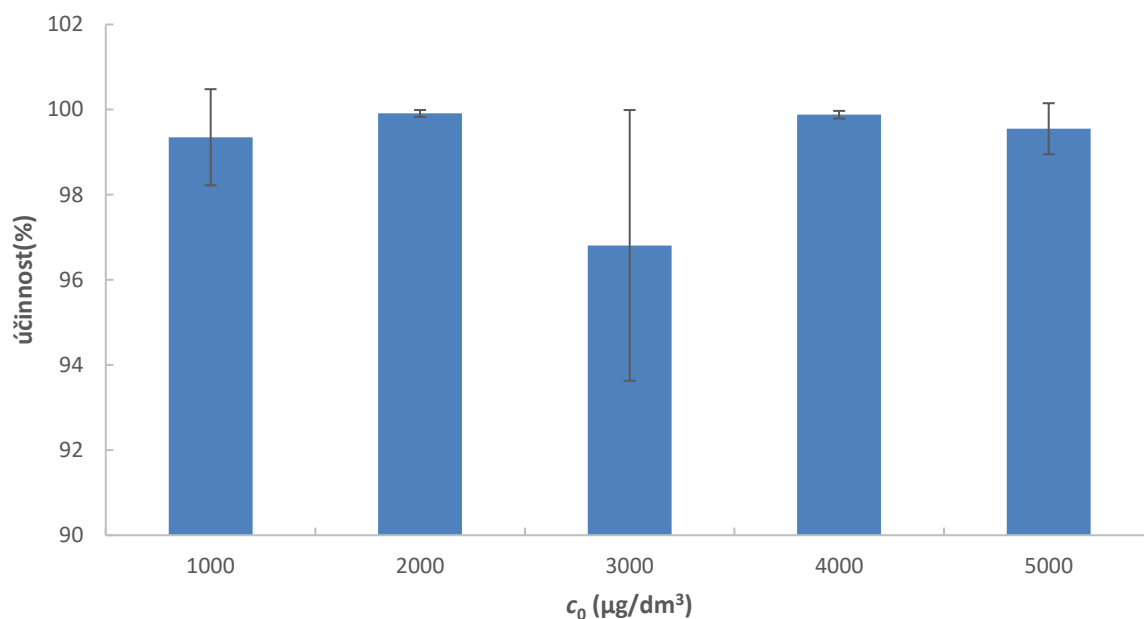
Na základě zkušeností získaných v první fázi měření, byl následně zúžen koncentrační rozsah použitých roztoků Ibuprofenu na 1000-5000 $\mu\text{g}/\text{l}$. Toto koncentrační rozmezí vyplynulo zejména z požadavků obsluhy kapalinového chromatografu s ohledem na použití nové kolony, jejích možností a konečné optimalizace měření bez nutnosti ředění a zakoncentrovávání vzorků.

5.2.1 Kapalinová chromatografie

Byla stanovena adsorbovaná množství Ibuprofenu v závislosti na jeho počáteční koncentraci. (viz Obr. 16). Z výsledků vyplývá, že adsorbované množství opět stoupá s počáteční koncentrací Ibuprofenu a účinnost adsorpce se i v této fázi práce blížila 100 % (Obr. 17).

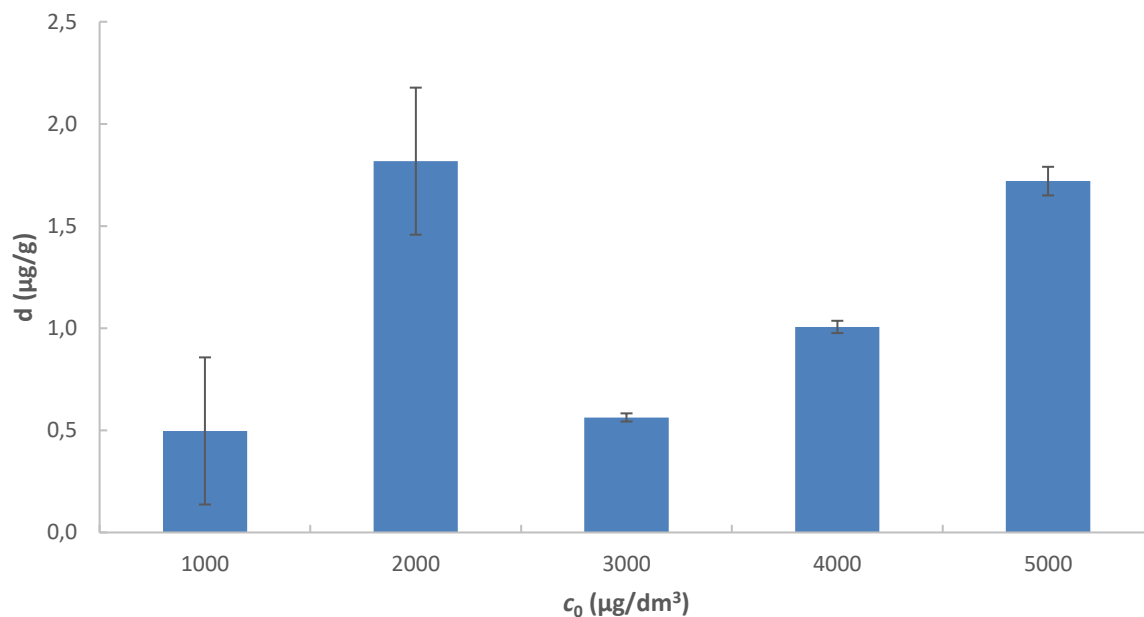


Obrázek 16 Graf závislosti adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

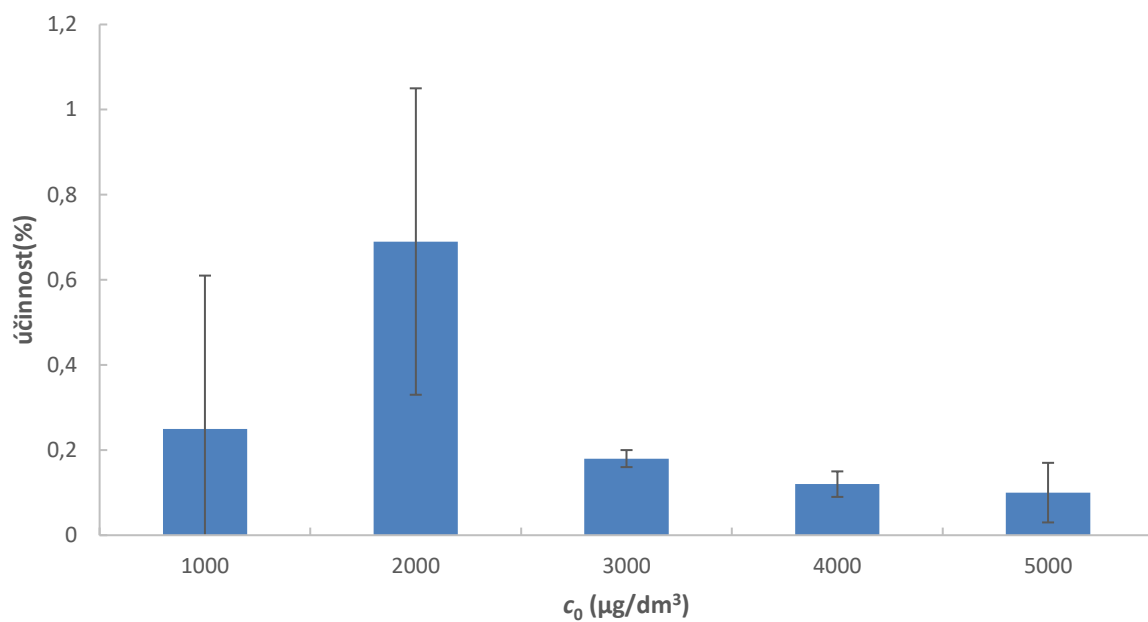


Obrázek 17 Graf závislosti účinnosti adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

Stabilita připravených komplexů Ibuprofenu s huminovými kyselinami byla posuzována na základě výsledků desorpčních experimentů. Bylo zjištěno, že vyluhovatelnost Ibuprofenu z huminových komplexů je velmi nízká a mobilní fáze tak netvoří ani 1 % původního adsorbovaného množství. huminové kyseliny jsou tedy schopny Ibuprofen velmi dobře vázat ve své struktuře a tím zabránit jeho migraci v půdě.

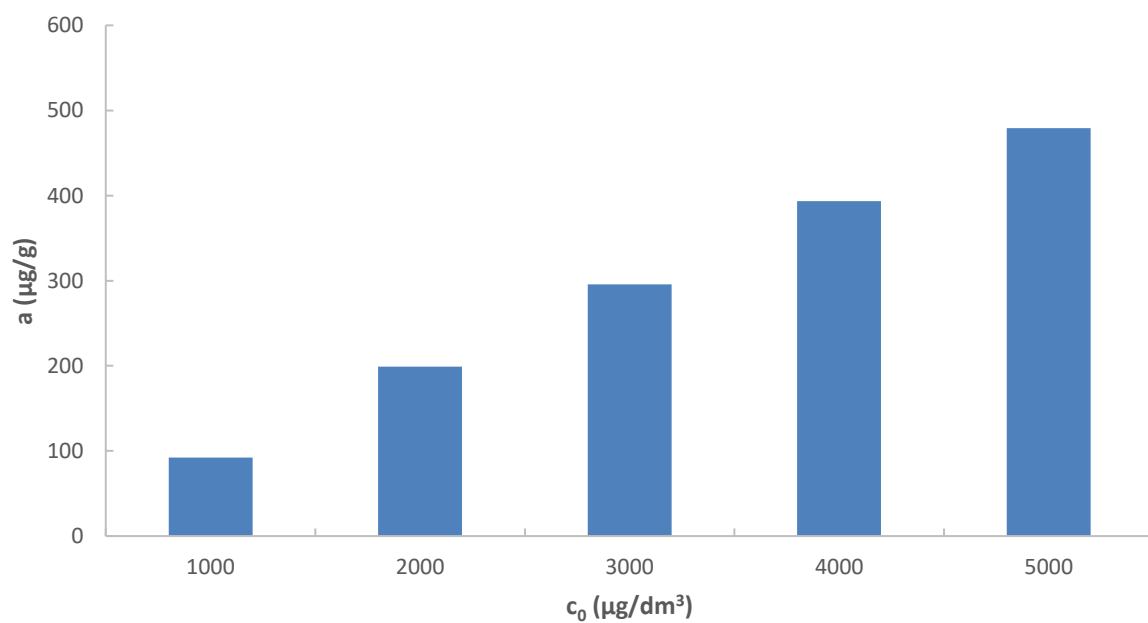


Obrázek 18 Graf závislosti desorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

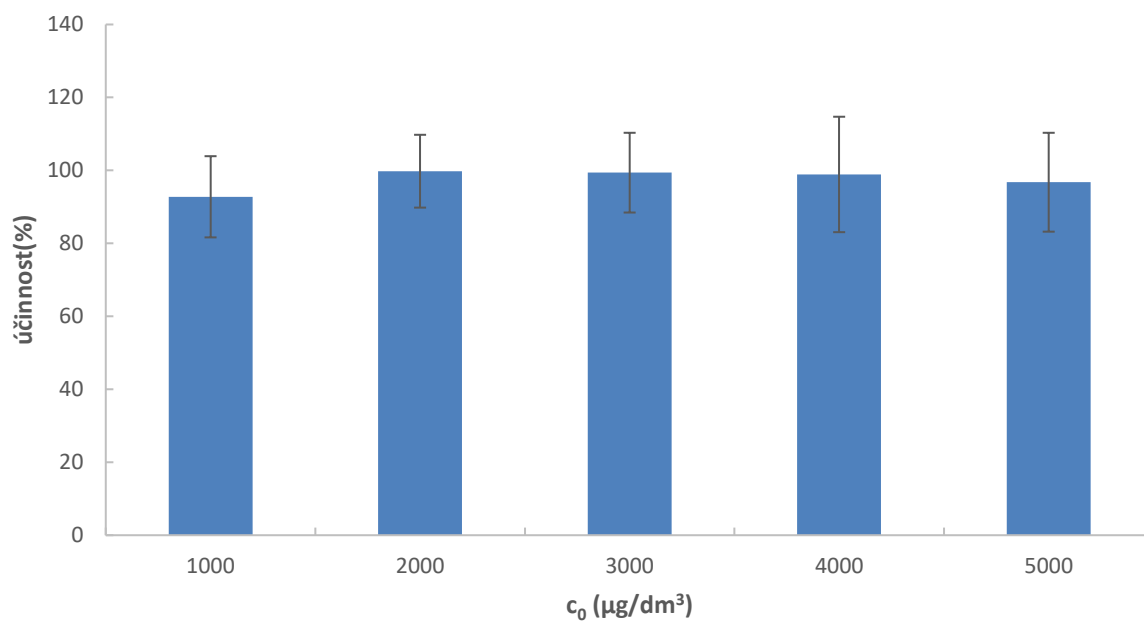


Obrázek 19 Graf závislosti účinnosti desorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

5.2.2 UV-VIS spektrometrie

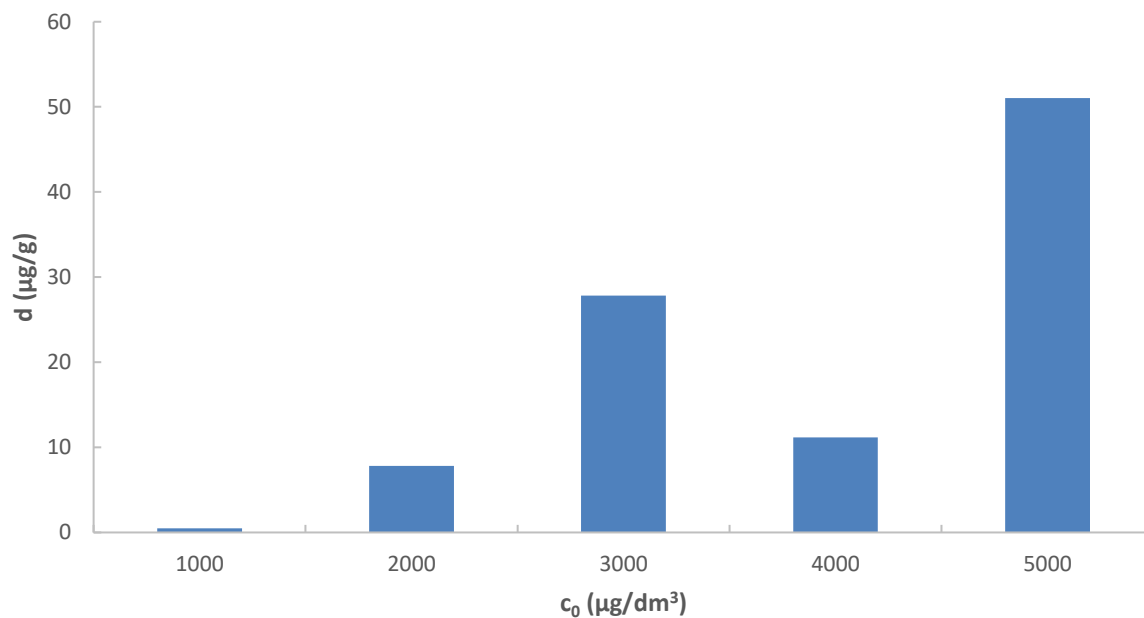


Obrázek 20 Graf závislosti adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

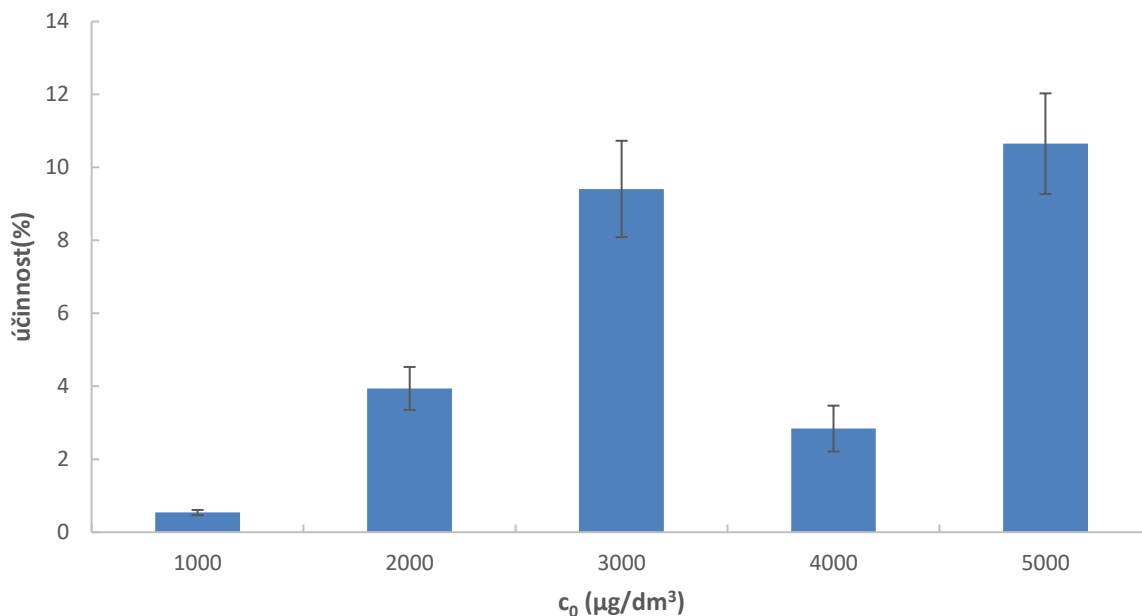


Obrázek 21 Graf účinnosti adsorpce Ibuprofenu v závislosti na jeho počáteční koncentraci

Adsorbovaná množství stanovená pomocí UV/VIS spektrometrie byla v poměrně dobré shodě s výsledky kapalinové chromatografie. Bylo potvrzeno, že účinnost adsorpce v daném koncentračním rozmezí blíží 100 %.



Obrázek 22 Graf závislosti desorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

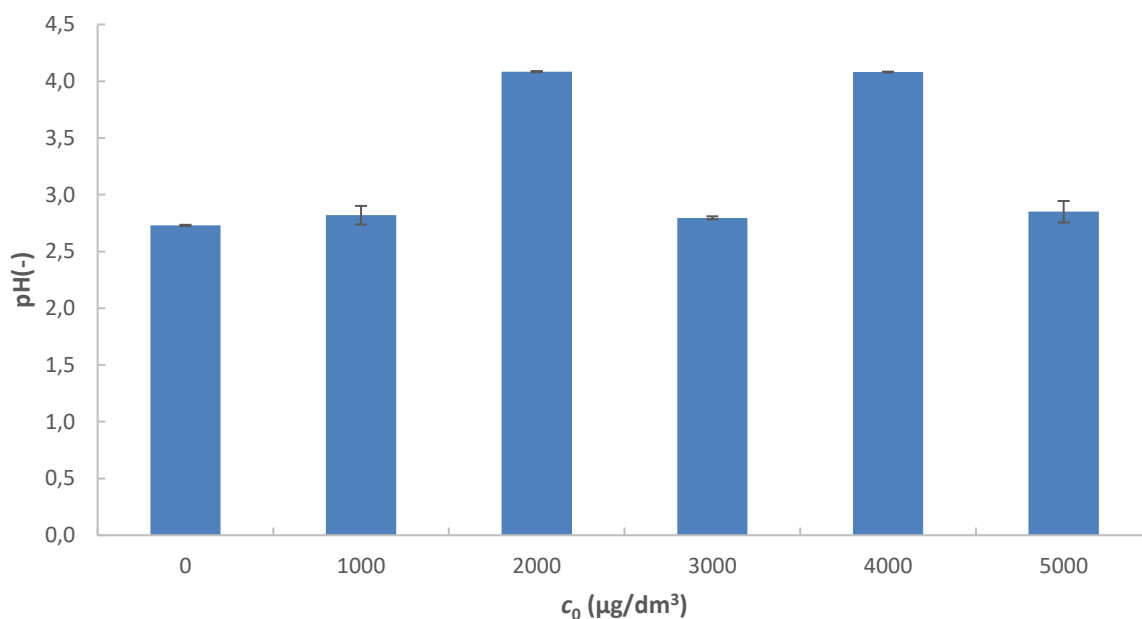


Obrázek 23 Graf účinnosti desorpce Ibuprofenu v závislosti na jeho počáteční koncentraci

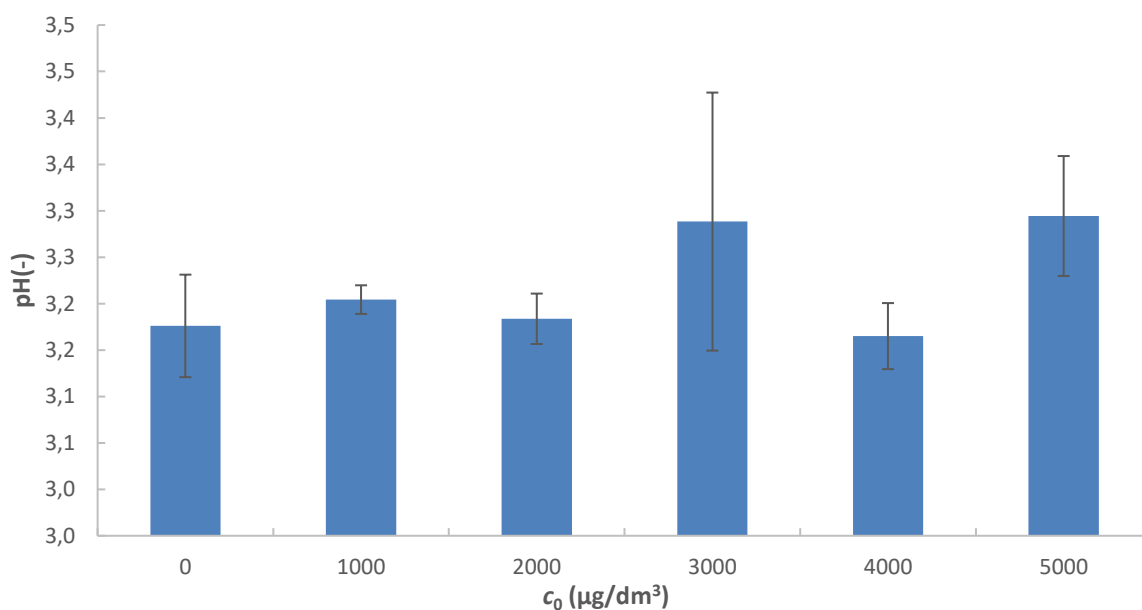
Účinnost desorpce stanovená na základě UV-VIS spektrometrie byla v porovnání s výsledky kapalinové chromatografie vyšší, maxima dosahovala kolem 10 %. Také v tomto případě ale zůstalo majoritní množství Ibuprofenu navázáno na huminové kyseliny a podíl mobilní frakce byl řádově v jednotkách %.

5.2.3 pH

I v tomto měření se hodnoty pH se pohybovaly v rozmezí 2-4, což je dáno opět výskytem karboxylových kyselin jakožto funkčních skupin v huminových kyselinách. I v tomto měření má desorpce vyšší hodnotu pH než vzorky po adsorpci, a to ze stejných důvodů jako u první části-došlo k malému výluhu huminových kyselin.



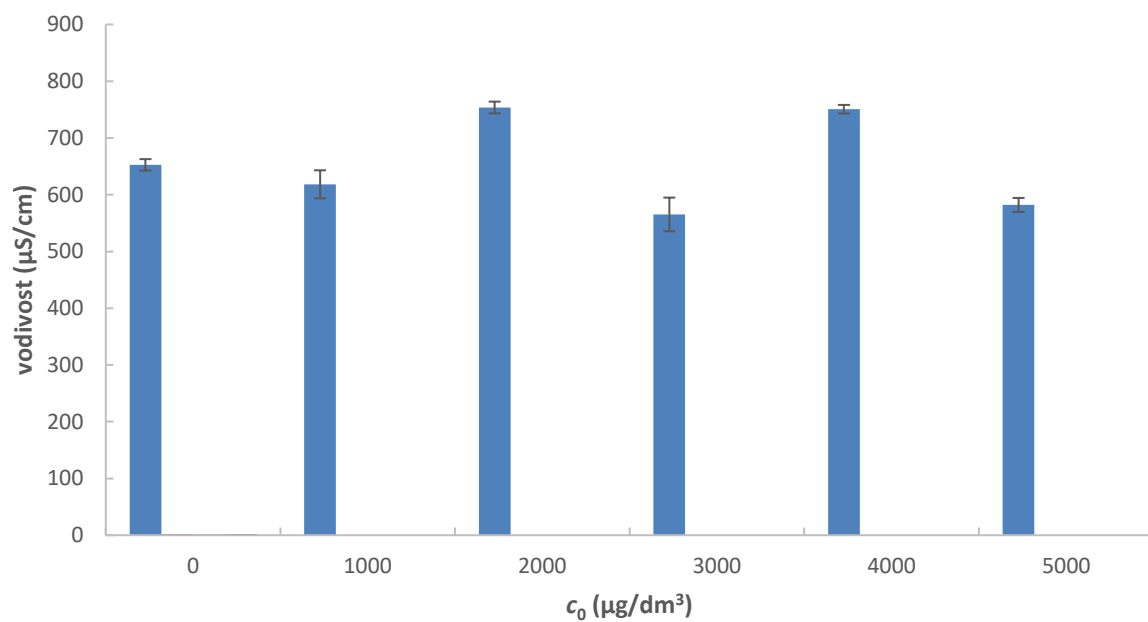
Obrázek 24 Graf závislosti pH adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu



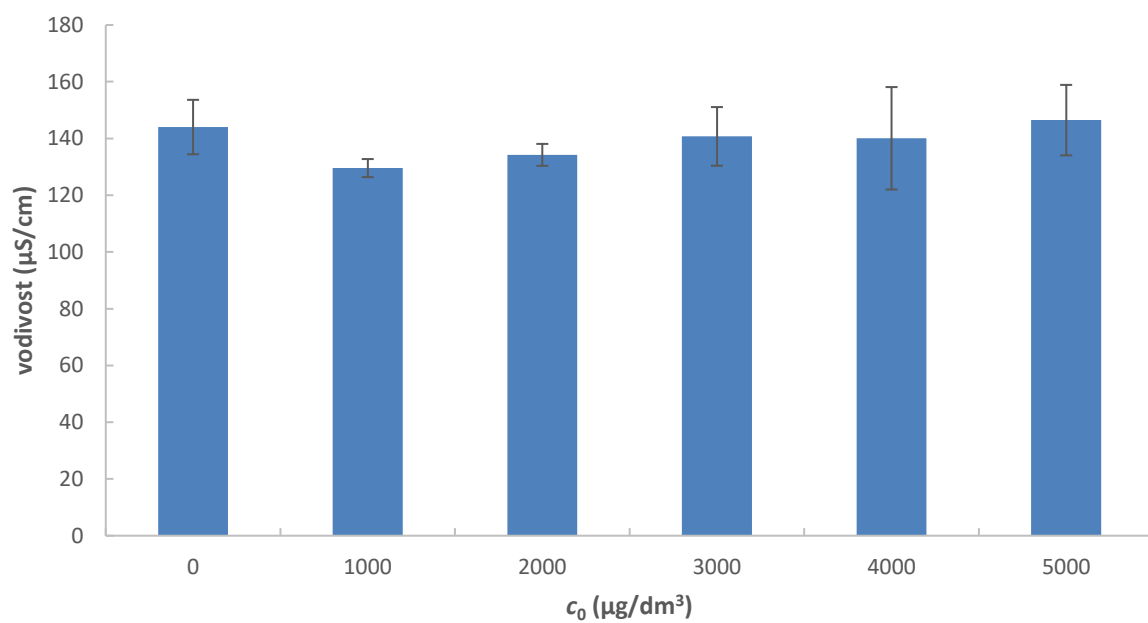
Obrázek 25 Graf závislosti pH desorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

5.2.4 Vodivost

Stejně, jako v první části měření, i zde hodnotu vodivosti ovlivňují ionty. V těchto vzorcích byla naměřena vodivost v rozmezí 600-800 $\mu\text{S/cm}$ po adsorpci, po desorpci byla naměřena v rozmezí 120-160 $\mu\text{S/cm}$. Hodnoty mohou být ovlivněny tím, že v této fázi experimentů byl použit jiný vzorek huminových kyselin. Z naměřených hodnot vyplývá, že větší část iontů z huminových kyselin přešla do roztoku už při adsorpci. Po desorpci pak byly ve výluzích naměřeny zhruba čtvrtinové hodnoty.



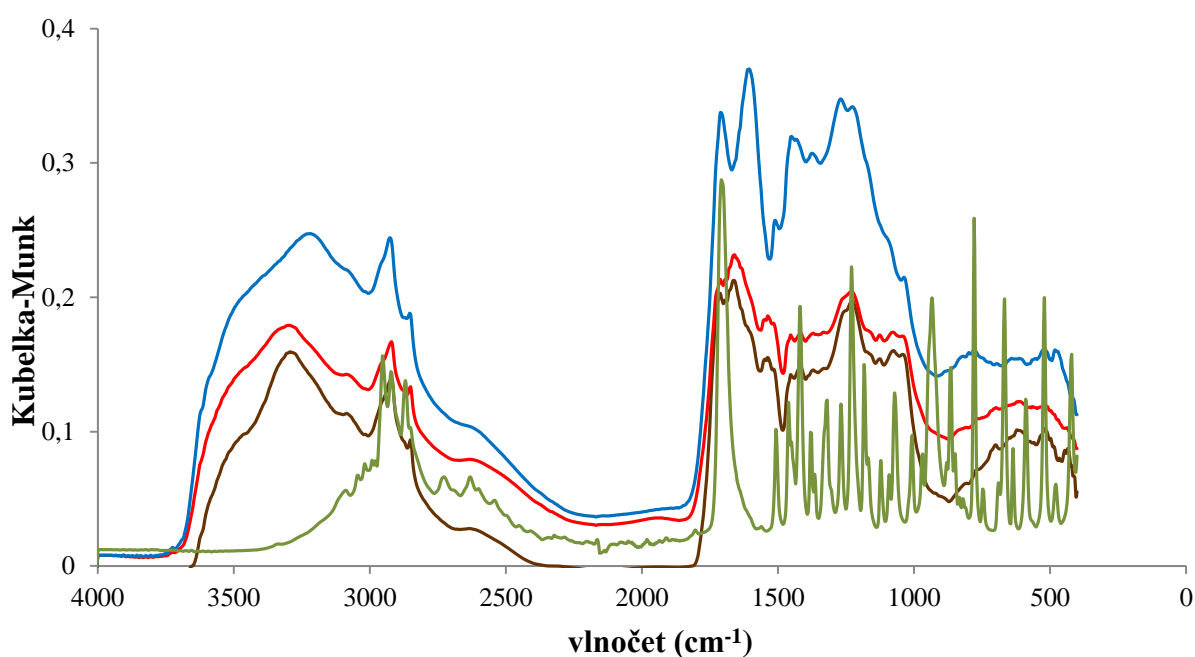
Obrázek 26 Graf závislosti vodivosti adsorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu



Obrázek 27 Graf závislosti vodivosti desorbovaného množství na počáteční koncentraci Ibuprofenu

5.3 FT-IR spektrometrie

Byla proměřena spektra vzorků samotných huminových kyselin PBS, vzorky po adsorpci i desorpci. Spektra komplexů huminových kyselin s Ibuprofenem odpovídají jeho počáteční koncentraci 5000 $\mu\text{g/l}$. Na Obrázku 28 značí hnědé spektrum samotnou HK, červené označuje HK s Ibuprofenem po adsorpci, modré spektrum značí HK s Ibuprofenem po desorpci a zelené spektrum značí samotný Ibuprofen. V oblasti 3400–3300 cm^{-1} IR spekter huminových látek se nachází výrazný široký absorpční pás, přiřazený valenčním vibracím fenolických OH skupin. Absorpční pás při 2900 cm^{-1} přísluší valenčním vibracím alifatické vazby C–H, mívá ve spektrech HK velmi proměnlivou střední nebo malou intenzitu. Pásky antisymetrické a symetrické valenční C–H vibrace ve skupinách $-\text{CH}_2-$ mají maxima při 2930 a 2840 cm^{-1} . Široký pás valenčních vibrací O–H karboxylových skupin, vázaných vodíkovým můstkem v dimeru, mívá maximum při 2600 cm^{-1} . Pro studium kyslíkatých funkčních skupin je významná oblast spektra mezi 1900–1500 cm^{-1} , kde je možno nalézt vibrační pásy karbonylových skupin. Absence pásů při vlnočtech 1760 a 1735 cm^{-1} je považována za důkaz, že jen minimum skupin C=O (popř. žádné) se v HK vyskytuje vázaných v nasycených esterech.



Obrázek 28 Graf FT-IR spektra

6 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo seznámit se s huminovými kyselinami a navrhnout metodu na zjištění stability huminových kyselin s léčivem, v tomto případě Ibuprofen. Z předpokladů, že léčiva se velmi často dostávají do půdy jsme usoudili, že jisté sorpční vlastnosti zjistíme. Pomocí kapalinové chromatografie a UV-VIS spektrometrie bylo zjištěno, že v první části měření byla účinnost téměř stoprocentní, nicméně při použití méně koncentrovaných roztoků Ibuprofenu byla jeho koncentrace po adsorpci hluboko pod detekčním limitem přístroje a vznikla tak vysoká chyba stanovení. Proto bylo nutné provést druhou část měření, kde byl vybrán jiný rozsah koncentrací. V druhé části měření 99 % frakce zůstane stabilní v půdě, kde již nadále nebude ničím škodit životnímu prostředí, zbylé 1 % se může dál vyluhovat a může tak jistými vlivy zasahovat do ŽP. Ibuprofen se v odpadních vodách vyskytuje v koncentracích okolo hodnoty 20 µg/l, tudíž naší další možnou prací je proměřit další koncentrace, kdy se co nejbližší přiblížíme dané koncentraci Ibuprofenu anebo proměříme jiný typ léčiva, které se také hojně dostává do odpadních vod.

7 SEZNAM LITERATURY

- [1] PIVOKONSKÝ, Martin, Lenka PIVOKONSKÁ, Petra BUBÁKOVÁ a Václav JANDA, 2010. Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chemické Listy* [online]. **104**(11), 1015-1022 [cit. 2018-04-27]. ISSN 00092770.
- [2] Veselá, L., Kubal, M., Kozler, J., Innemanová, P.: Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy*, 2005, roč. 99, s. 711-717
- [3] STEINBERG, Christian E.W, 2003. Ecology of humic substances in freshwaters: determinants from geochemistry to ecological niches. Berlin: Springer, 440 s. ISBN 3-540-43922-6.
- [4] STEINBÜCHEL, A. a M. HOFRICHTER, 2003. *Biopolymers*. Chichester: Wiley-VCH. ISBN 3527302301.
- [5] TAN, Kim H., 2014. *Humic matter in soil and the environment: principles and controversies*. Second edition. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group. Books in soils, plants, and the environment. ISBN 9781482234459.
- [6] Mikulášková, B., Lapčík, B., Mašek, I.: Lignit – struktura, vlastnosti a použití. *Chemické listy*, 1997, roč. 91, s. 160-168
- [7] Jirásek, J., Sivek, M. Ložiska nerostů:multimediální učební text. Dostupný z: <http://geologie.vsb.cz/loziska/loziska/energysur/lignit.html> , citováno 4.1. 2019
- [8] Spirhanzl, J.:Rašelina:Její vznik, těžba a využití, Přírodovědecké nakladatelství, 1951, str. 355
- [9] SKOKANOVÁ, M. a K. DERCOVÁ, 2008. Humínové kyseliny. Interakcie huminových kyselin s kontaminantami. *Chemické Listy* [online]. **102**(5), 338-345 [cit. 2018-12-07]. ISSN 00092770.
- [10] WEBER, J.: Definition of soil organic matter, Humintech [online]. 2008, [cit.2019-04-27]. Dostupné z <http://www.humintech.com/001/>.
- [11] STEVENSON, F.J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd Ed. New York: John Wiley, 1994, xiii, 496 s. : il. ISBN 0-471-59474-1.
- [12] Skybová, M. Humínové kyseliny – prínos pre environmentálny výskum. *Acta Montanistica Slovaca*, 2006, č. 2, s. 362–366. ISSN 1335-1788.
- [13] ALVAREZ-PUEBLA, R.A., P.J.G. GOULET a J.J. GARRIDO, 2005. Characterization of the porous structure of different humic fractions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. **256**(2-3), 129-135 [cit. 2019-04-27]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2004.12.062. ISSN 09277757. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775705000129>
- [14] GUALTIERI, WEBER, J.: Properties of humic substances [online], 2009 [cit. 2019-04-27]. Dostupné z <http://www.ar.wroc.pl/~weber/kwasy2.htm>>
- [15] MLČOCH, Tomáš, 2008. *Fluorescence huminových kyselin 3D excitačně emisní metodou*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická.
- [16] IHSS: O huminových látkách [online]. [cit. 2019-01-04]. Dostupné z: <http://ihss-cz.cz/ohuminovych-latkach.html>

- [17] Žbáňková P., Klučáková M.: Lignitic Humic Acid as Aid in Soil Remediation. In Proc. 8th International Conference on Environment and Mineral Processing. Part I (Ed. P. Fečko, V. Čablík), pp. 263-8, VŠBTU Ostrava, Ostrava 2004. ISBN 80-248-0559-6.
- [18] PENA-MÉNDEZ, E. M., HAVEL, J. a J. PATOČKA. Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*. 2005, r. 3, č. 1, s. 13 – 24.
- [19] Pekař, M., Klučáková, M.: Alternativní, neenergetické aplikace lignitu. *CHEMagazín*, 2003, roč. 13, č. 1, s. 8-10
- [20] PEURAVUORI, J., P. ŽBÁNKOVÁ a K. PIHLAJA, 2006. Aspects of structural features in lignite and lignite humic acids. *Fuel Processing Technology* [online]. **87**(9), 829-839 [cit. 2019-04-27]. DOI: 10.1016/j.fuproc.2006.05.003. ISSN 03783820. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378382006000567>
- [21] Clapp, C.E., Gates, M. H. B., Simpson, A.J, Kingery, W.J.: Chemistry of soil organic matter. V: Chemical processes in soils, Soil Science Society of America, 2005, SSSA Book Series, č. 8
- [22] HESKETH, Nicholas, Malcolm N. JONES a Edward TIPPING, 1996. The interaction of some pesticides and herbicides with humic substances. *Analytica Chimica Acta* [online]. 327(3), 191-201 [cit. 2019-02-05]. DOI: 10.1016/0003-2670(96)00081-5. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003267096000815>
- [23] ZANINI, Graciela P., Marcelo J. AVENA, Sarah FIOL a Florencio ARCE, 2006. Effects of pH and electrolyte concentration on the binding between a humic acid and an oxazine dye. *Chemosphere* [online]. **63**(3), 430-439 [cit. 2019-02-05]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.08.053. ISSN 00456535. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653505011288>
- [24] KHIL'KO, S. L. a R. G. SEMENOVA, 2016. Interaction of humic acid salts with drug preparations. *Solid Fuel Chemistry* [online]. **50**(6), 390-394 [cit. 2019-02-05]. DOI: 10.3103/S0361521916060057. ISSN 0361-5219. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.3103/S0361521916060057>
- [25] KOTYZA, Jan, Petr SOUDEK, Zdeněk KAFKA a Tomáš VANĚK. Léčiva – „nový“ environmentální polutant. *Chemické listy*. 2009,103(7), 540-547. ISSN 1213-7103-0009-2770
- [26] GEROČOVÁ, Tatiana. Ibuprofen očami súčasného lekárnik. *Remedia* [online]. 2012, č. 2 [cit. 2019-03-07]. Dostupné z: <http://www.solen.sk/pdf/457900e33ce2f173420b36876f0c79c8.pdf>
- [27] WEBER, Jerzy;chen. Preface: humic substances in the environment. *Journal of Soils and Sediments* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2018, **18**(8), 2665-2667 [cit. 2019-02-08]. DOI: 10.1007/s11368-018-2052-x. ISSN 1439-0108.

- [28] BŁOŃSKA, Ewa;lasota. The effect of landslide on soil organic carbon stock and biochemical properties of soil. *Journal of Soils and Sediments* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2018, **18**(8), 2727-2737 [cit. 2019-02-08]. DOI: 10.1007/s11368-017-1775-4. ISSN 1439-0108.
- [29] DEGRENDELE, Céline, Ondřej AUDY, Jakub HOFMAN, et al., 2016. Diurnal Variations of Air-Soil Exchange of Semivolatile Organic Compounds (PAHs, PCBs, OCPs, and PBDEs) in a Central European Receptor Area. *Environmental Science & Technology* [online]. **50**(8), 4278-4288 [cit. 2019-04-30]. DOI: 10.1021/acs.est.5b05671. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.5b05671>

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

HL	Huminové látky
HK	Huminové kyseliny
FK	Fulvinové kyseliny
AK	Aminokyselina
UV	Oblast ultrafialového světla elektromagnetického záření
VIS	Viditelná oblast elektromagnetického záření
ŽP	Životní prostředí
FT-IR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací